

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE VETERINARIA**  
Departamento de Nutrición y Bromatología III (Higiene y Tecnología de los alimentos)



TESIS DOCTORAL

**Influencia de la estimulación eléctrica sobre las  
características de la carne de cordero durante su  
conservación por el frío**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**José Carballo Santaolalla**

DIRECTOR:

**Eugenio García Matamoros**

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Veterinaria

Departamento de Nutrición y Bromatología III

TP  
1988  
066



\* 5 3 0 9 8 7 4 4 2 9 \*  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x-53-102861-4

**INFLUENCIA DE LA ESTIMULACION  
ELECTRICA SOBRE LAS CARACTERISTICAS DE  
LA CARNE DE CORDERO DURANTE SU  
CONSERVACION POR EL FRIO**

José Carballo Santaolalla

Madrid, 1988



BIBLIOTECA

**Colección Tesis Doctorales. N.º 66/88**

**© José Carballo Santaolalla**

**Edita e imprime la Editorial de la Universidad  
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía  
Noviciado, 3 - 28015 Madrid  
Madrid, 1988  
Ricoh 3700  
Depósito Legal: M-3794-1988**

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID  
FACULTAD DE VETERINARIA

**INFLUENCIA  
DE LA ESTIMULACION ELECTRICA  
SOBRE LAS CARACTERISTICAS  
DE LA CARNE DE CORDERO  
DURANTE SU CONSERVACION  
POR EL FRIO**

**JOSE CARBALLO SANTAOLALLA  
1986**



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID - FACULTAD DE VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE NUTRICION Y BROMATOLOGIA III  
(HIGIENE Y TECNOLOGIA DE LOS ALIMENTOS)

INFLUENCIA DE LA ESTIMULACION ELECTRICA SOBRE LAS  
CARACTERISTICAS DE LA CARNE DE CORDERO DURANTE SU  
CONSERVACION POR EL FRIO

Tesis que presenta el Licenciado  
D.José Carballo Santaolalla para ob  
tar al grado de Doctor en Veterina-  
ria, realizada bajo la dirección  
del Dr.D.Eugenio García-Matamoros

Madrid, 20 de Octubre de 1986



A mi padre





#### AGRADECIMIENTOS

La presente investigación se realizó en el Instituto del Frío, gracias a una beca predoctoral concedida por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, bajo la dirección del Profesor de Investigación Dr. D. Eugenio García-Matamoros siendo ponente de la misma el Dr. D. Juan Antonio Ordoñez Pereda, a quienes expreso aquí mi mas sincero agradecimiento por la ayuda y orientaciones recibidas durante su realización.

Quiero agradecer al Dr.D. Bernabé Sanz Pérez el interés mostrado y al Dr Fernando Beltrán Cortés por las multiples facilidades que me ha dado para realizar este trabajo en el Instituto del Frío, del que es director.

Agradezco muy especialmente al Dr.D.Francisco Jimenez-Colmenero que, sin escatimar esfuerzos, ha sido a la vez un inestimable colaborador y buen amigo.

Quiero agradecer también a los Dres D. A.Moral, D. F.J. Borderías, Dª M.Tejada y Dª M.C.Pelaez y a D. M.Lamua por la gran ayuda prestada en el intercambio de ideas y por los consejos recibidos.

También quiero agradecer a Dª Mercedes Barbeito por su labor mecanográfica.

Así mismo quiero agradecer al Matadero Industrial de GYPI SA, especialmente al Sr.Durán y al Sr.Jimenez, por las facilidades que en todo momento me han ofrecido para la toma de muestras.

Por último no quisiera olvidarme de todos los compañeros de la Unidad Estructural de Investigación y Tecnología del Tratamiento y Conservación por el Frío de Productos de Origen Animal del Instituto del Frío y todas aquellas personas que con su ayuda contribuyeron a la realización de esta Tesis ya que sin ellas no hubiera sido posible llevarla a cabo.



## INDICE



# I

I.- INTRODUCCION .....	1
1.- Aspectos generales .....	2
2.- Instauración del rigor mortis .....	5
3.- Influencia de la temperatura en el acortamiento de la fibra muscular .....	6
1.- Efecto de las altas temperaturas .....	7
2.- Efecto de las temperaturas intermedias ..	7
3.- Efecto de las bajas temperaturas .....	9
4.- Influencia del acortamiento de la fibra muscular en la dureza de la carne .....	15
5.- Métodos para evitar el rigor de la descongelación y el acortamiento muscular por frío .....	15
1.- Tratamientos ante-mortem .....	15
2.- Tratamientos post-mortem .....	17
6.- Estimulación eléctrica (EE) .....	20
1.- Antecedentes históricos .....	20
2.- Factores que condicionan la aplicación de la EE .....	21
1.-Factores intrínsecos .....	22
2.-Factores extrínsecos .....	22
-colocación de los electrodos .....	22
-tiempo transcurrido entre el sacrificio y la EE .....	23
-parámetros eléctricos .....	24
3.- Influencia de la EE en la bioquímica post-mortem .....	29
1.- Influencia de la EE sobre la glucólisis .....	31
2.- Influencia de la EE sobre las proteínas .....	33
4.- Influencia de la EE sobre la ultraestructura del músculo .....	34

## II

5.- Influencia de la EE sobre la calidad de la carne .....	36
1.-Dureza .....	36
2.-Color .....	38
3.-Capacidad de retención de agua .....	39
4.-Sabor .....	40
5.-Microbiología .....	40
II.- OBJETIVOS .....	42
III.- MATERIALES Y METODOS .....	44
1.- Especie objeto de estudio .....	45
2.- Sacrificio y faenado .....	45
3.- Estimulación eléctrica .....	45
1.- Características de los estimuladores ..	46
4.- Estudios de la estimulación eléctrica .....	47
1.- Efecto de los distintos estimuladores sobre las características de la carne ..	47
1.-Ensayos con los distintos estimuladores .....	47
2.-Tratamientos frigoríficos ....	52
3.-Estudio de las características de la carne .....	55
2.- Efecto de la EE sobre las características de la carne en función del tratamiento frigorífico aplicado .....	55
1.-Condiciones de estimulación ...	55
2.-Refrigeración y conservación al estado refrigerado .....	56
1.-Características de la carne	56
3.-Congelación y conservación al estado congelado .....	58
1.-Características de la carne	60
5.- Características técnicas de las instalaciones frigoríficas .....	61
1.-Túnel de refrigeración .....	61
2.-Túnel de congelación .....	61

### III

6.- Metodología empleada .....	62
1.-Determinación de la temperatura .....	62
2.-Determinación del pH .....	63
3.-Determinación del glucógeno .....	63
4.-Determinación del ácido láctico .....	64
5.-Determinación del ATP y sus productos de degradación .....	65
1.-métodos directos .....	65
2.-métodos indirectos .....	67
6.-Determinación de la capacidad de retención de agua .....	67
7.-Análisis microbiológico .....	69
8.-Estudio de las proteínas .....	70
1.-Electroforesis de las proteínas miofibrilares .....	70
2.-Solubilidad proteica .....	73
9.-Pérdidas de peso .....	74
10.-Índice del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)..	74
11.-Medida objetiva del color .....	74
12.-Métodos objetivos de textura .....	76
1.-Célula de Kramer .....	76
2.-Warner-Bratzler .....	78
13.-Análisis sensorial .....	79
14.-Tratamiento estadístico .....	81

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION .....	82
1.- Estudio del efecto de los distintos tipos de estimuladores sobre las características de la carne ....	83
1.-Determinación de la temperatura y el pH ..	83
2.-Análisis instrumental de dureza .....	91
3.-Análisis sensorial .....	102
4.-Análisis de varianza entre las distintas determinaciones de textura .....	108
5.-Comparación entre la determinación de textura por métodos objetivos y subjetivos ..	113



#### IV

2.- Refrigeración y conservación al estado refrigerado	115
1.-Consecuencias del tratamiento durante las primeras horas post-mortem	115
1.-Determinación de la temperatura	115
2.-Determinación del pH	117
3.-Determinación del glucógeno	120
4.-Determinación del ácido láctico	122
5.-Determinación del ATP y sus productos de degradación	124
1.-Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia	124
2.-Valor R	134
6.-Estudio de la capacidad de retención de agua	137
2.-Consecuencias del tratamiento durante la conservación al estado refrigerado	139
1.-Análisis microbiológico	139
2.-Estudio electroforético de las proteínas miofibrilares	142
3.-Estudio del color por métodos objetivos	152
4.-Análisis instrumental de textura	157
5.-Análisis sensorial	161
3.- Congelación y conservación al estado congelado	163
1.-Estudio de pérdidas de peso	163
2.-Análisis microbiológico	167
3.-Índice del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA)	170
4.-Modificaciones de las proteínas	170
1.-Solubilidad proteica	173
2.-Estudio electroforético de las proteínas miofibrilares	176
5.-Estudio de la capacidad de retención de agua	185
6.-Estudio del color por métodos objetivos	188
7.-Análisis instrumental de textura	192

8.-Análisis sensorial .....	196
V.- CONCLUSIONES .....	199
VI.- BIBLIOGRAFIA .....	203



## **I.- INTRODUCCION**

### I.1.- ASPECTOS GENERALES

Tradicionalmente España ha sido un país productor de carne de cordero, en 1984 la producción fue de 128.523 Tm., que supuso más de 66.000 millones de pesetas (Manual de Estadística Agraria, 1985). Esta producción, estabilizada durante los últimos años, es suficiente para cubrir las necesidades de nuestro mercado interior e incluso nos permite realizar unas exportaciones por valor de varios cientos de millones de pesetas.

Con la entrada en la Comunidad Económica Europea (CEE), España se convierte en el tercer país productor de carne de cordero, por detrás del Reino Unido y Francia, con un 18% de la producción de la Comunidad (Tablas I y II). En 1982 la CEE tenía una producción de 704.000 Tm. y un consumo de 975.000 Tm., cubriendo el déficit mediante importaciones, principalmente de cordero congelado, procedentes de Nueva Zelanda, Australia, Argentina y países de la Europa del Este. España, debido a las excepcionales condiciones climáticas, podría aumentar su producción elevando su censo (que ocupa en la actualidad el segundo de la CEE), y sobre todo aumentando el peso medio de las canales (que actualmente están muy por debajo de la media de los países comunitarios, Tabla II) mediante selección de razas, pudiendo llegar a cubrir según la U.S. Feed Grains Council (1986) parte del déficit de la CEE. Este aumento en la producción debe de ir parejo a un desarrollo de la tecnología frigorífica adecuada, con vistas a la exportación de dicha carne.

Al final de la década de los 40 el aumento en la producción de carne y el gran desarrollo de la aplicación industrial del frío hicieron modificar las instalaciones frigoríficas, imponiéndose una nueva tecnología con procesos de refrigeración y congelación realizados inmediatamente después del faenado del animal, que producían una disminución del espacio necesario para realizar el tratamiento frigorífico, así como una mejor calidad microbiológica de la carne y menores pérdidas de peso durante el tratamien-

Tabla I.- Producción de carne de ovino y caprino (miles de toneladas) de los principales países productores de la CEE.

Países	1980	1981	1982
Reino Unido	283	267	266
Francia	174	175	184
Grecia	120	119	118
Italia	55	55	52
Irlanda	39	40	40
Total CEE	720	701	704
España	136	139	141

Fuente: Anuario de Estadística Agraria. 1983.

Sánchez y Encinas (1984).

Tabla II.- Censo de ganado ovino (miles de cabezas) y peso medio de las canales (kilogramos) de los principales países productores de la CEE.

Países	Censo (000)			Peso medio canal (Kg)	
	1980	1981	1982	1981	1982
Reino Unido	21.6	22.9	22.9	19	19
Francia	12.9	13.1	12.1	19	19
Grecia	8.0	8.1	9.8	11	11
Italia	9.2	9.0	9.2	9	9
Irlanda	2.3	2.4	2.4	24	24
Total CEE	56.4	57.7	58.8	16.3	16.0
España	16.1	16.8	18.9	12	12

Fuente: Anuario de Estadística Agraria. 1983.

Sánchez y Encinas (1984).

to.

Es a finales de la década de los 50 cuando se observó en el Reino Unido un gran rechazo por parte del consumidor de la carne de cordero congelado procedente de Nueva Zelanda debido a su gran dureza. Ante la magnitud y persistencia de las quejas inglesas, la Asociación de Productores de la Carne de Nueva Zelanda realizó una serie de investigaciones que llevaron a la conclusión de que la nueva tecnología de aplicación del frío provocaba un aumento en la dureza de la carne, principalmente en canales de cordero al ser de pequeño tamaño y soportar los cambios de temperatura de manera más brusca.

Locker en 1960 estableció una relación entre el grado de acortamiento de la fibra muscular y la dureza de la carne. Locker y Hagyard en 1963 relacionaron el descenso de la temperatura en el animal recién faenado y el acortamiento de la fibra muscular, indicando la aparición de un fenómeno al que denominaron contracción muscular por frío ("cold shortening" en su denominación inglesa), que se manifiesta en un endurecimiento de la carne procedente de canales recién faenados y sometidas a descensos rápidos de temperatura.

A partir de 1970 diversos investigadores realizaron estudios para intentar poner en práctica procedimientos que permitieran evitar estos inconvenientes ante el costo económico que suponía la modificación de las instalaciones frigoríficas. Así, se podrían citar entre los tratamientos empleados, la modificación del colgado tradicional de las canales (Hostetler y col., 1970; Quarrier y col., 1972; Davey y Gilbert, 1975), el acondicionamiento de las canales a temperaturas moderadas antes de realizar el tratamiento frigorífico (Smith y col., 1971; Dutson y col., 1975; Fields y col., 1976) o la estimulación eléctrica postmortem (Carse, 1973; Chrystall y Hagyard, 1975 y 1976).

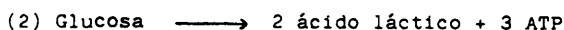
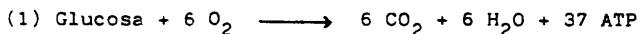
Fueron investigadores neozelandeses los primeros en em-

plear la estimulación eléctrica para reducir la incidencia específica de estos fenómenos. Así, Carse en 1973 indicó que su aplicación en canales de cordero aceleraba la glucolisis post-mortem y disminuía el peligro de un aumento en la dureza de la carne por el acortamiento muscular por frío.

A partir de entonces han sido numerosos los estudios que se vienen realizando para determinar cuales son las condiciones óptimas para llevar a cabo la estimulación eléctrica.

## I.2.- INSTAURACION DEL RIGOR MORTIS

Con la muerte del animal se interrumpe la circulación sanguínea y, en consecuencia, se produce el fallo en el aporte de  $O_2$  al músculo, con la consiguiente caída del potencial de oxidación. Al no ser posible la resíntesis del ATP mediante la fosforilación oxidativa, se obtiene la energía metabólica, primero por medio de la fosfocreatina (PC), y después por la glucolisis anaerobia, que se caracteriza por una menor eficacia energética (1 y 2) y por una acumulación de ácido láctico en el músculo, que produce un descenso en el pH. La velocidad del desarrollo de estos cambios va a estar condicionada, entre otros factores, por la temperatura a que se sometan las canales.



(Lawrie, 1974).

A medida que discurre la glucolisis post-mortem el músculo se hace inextensible, disminuye la capacidad de retención de agua (CRA), se hace más duro, etc., fenómeno que se conoce como rigor mortis. El mecanismo del rigor mortis y el de la contracción muscular en el animal en vivo son muy parecidos, con la diferencia de que en el primero la relajación no es posible al agotarse las reservas energéticas del músculo. Así, la contracción mus-



cular se inicia con un estímulo nervioso que alcanza la placa nerviosa terminal, se transmite al sarcolema y provoca la liberación de iones calcio por parte del retículo sarcoplásmico, aumentando bruscamente su concentración en el sarcoplasma de  $10^{-8}M$  a  $10^{-6}M$ . Al producirse este aumento el  $Ca^{2+}$  se liga al complejo de las troponinas, que pierden su acción inhibitoria sobre la unión de la actina con la miosina. Estas proteínas interaccionan formando el complejo actomiosina y liberando la energía suficiente para producir la contracción muscular con la consiguiente disminución de la longitud del sarcómero.

La relajación se alcanza cuando se restaura el estatus iónico del músculo en reposo, mediante la repolarización del potencial de membrana. Se disminuye la concentración de iones calcio en el sarcoplasma por su transferencia, a través de la bomba del calcio, al retículo sarcoplásmico, desplazando los  $Ca^{2+}$  ligados a las troponinas, que vuelven a ejercer su efecto inhibitor sobre la unión actina-miosina. Aumenta la longitud del sarcómero y el músculo vuelve a la posición de reposo.

La energía suficiente para la restauración del potencial de membrana y el funcionamiento de la bomba del calcio provienen de la hidrólisis del ATP. Con la muerte del animal los niveles de ATP en el músculo van descendiendo paulatinamente. Así, cuando hay un 90% del ATP inicial, el músculo empieza a contraerse; al alcanzar un 80% es casi inextensible, y se llega a la rigidez completa cuando solo se conserva un 20% del ATP inicial (Lawrie, 1974).

### 3.- INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA EN EL ACORTAMIENTO DE LA FIBRA MUSCULAR

La instauración del rigor mortis se acompaña de cambios físicos tales como la pérdida de extensibilidad y de elasticidad,

el acortamiento y el aumento de tensión, así como la pérdida en la capacidad de retención de agua, que van a incidir en la calidad de la carne.

El acortamiento de la fibra muscular va a estar condicionado por factores tanto intrínsecos como extrínsecos. Entre estos últimos cabe destacar la tensión que soporta el músculo durante la instauración del rigor mortis y la temperatura a que es sometido.

La temperatura muscular tras la muerte del animal ha de descender lo más rápidamente posible con el fin de impedir el desarrollo de los microorganismos, evitar pérdidas de peso y reducir la desnaturalización proteica.

La variación del acortamiento de la fibra muscular va a estar condicionada por la temperatura a que se desarrollen los procesos post-mortem (Fig.1), pudiéndose analizar más adecuadamente estos comportamientos al considerar tres zonas en función de las temperaturas empleadas:

#### I.3.1.- Efecto de las altas temperaturas

Si se mantienen las canales a altas temperaturas, por encima de los 20-25°C, hay un descenso rápido del pH, se produce una gran desnaturalización proteica con formación de gran número de enlaces cruzados entre los filamentos de actina y de miosina, originando acortamientos en la fibra muscular de hasta el 40%, lo que da lugar a grandes pérdidas de exudado, y a una carne dura y poco jugosa, incluso después de la cocción.

#### I.3.2.- Efecto de temperaturas intermedias

Cuando se mantienen las canales entre 14-20°C de temperatura, disminuye la velocidad de la glucólisis post-mortem, tardándose más tiempo en alcanzar el pH final. Los acortamientos de

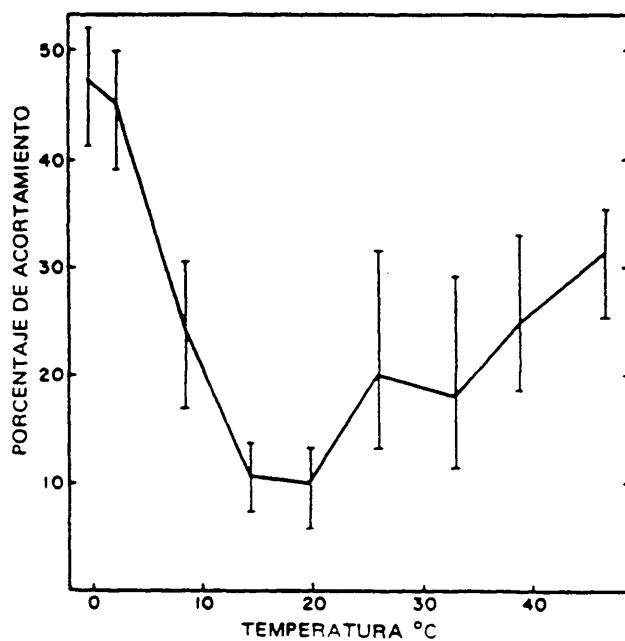


Fig. 1 .- Relación entre el acortamiento de la fibra muscular y la temperatura de conservación del músculo. Las líneas verticales representan las desviaciones típicas (LOCKER y HAGYARD, 1963).

las fibras musculares son mínimos (en ocasiones no alcanzan el 10%) y se obtiene una carne menos dura que la lograda a temperaturas más altas, y con mejor capacidad de retención de agua.

Sin embargo, el mantenimiento de la carne a temperaturas altas o intermedias; va a dar lugar a un mayor desarrollo de microorganismos, que van a disminuir su período de conservación.

#### I:3.3.- Efecto de las bajas temperaturas

Si la temperatura del animal recién sacrificado, sobre todo en canales de ovino y bovino, se hace descender por debajo de los 10-14°C antes de que el pH alcance valores inferiores a 6.0-6.2, se produce la contracción muscular por frío (Fig.2), que se caracteriza por una disminución muy brusca de la longitud del sarcómero, dando acortamientos de hasta el 40%, originando una carne dura y poco jugosa, dureza que persiste incluso después de los procesos de cocción.

#### - ACORTAMIENTO MUSCULAR POR FRIO

Este fenómeno difiere de los procesos que se desarrollan a temperaturas intermedias en que, las contracciones que se producen son más fuertes y menos reversibles, incluso tras el proceso de maduración.

Si bien la velocidad de la glucólisis es más baja por efecto del descenso de la temperatura, la velocidad de degradación del ATP es alta, lo que da lugar a fuertes contracciones.

Aunque se han propuesto diversos mecanismos para justificar este fenómeno, el más aceptado sugiere que en el desarrollo del acortamiento muscular por frío tienen lugar dos tipos de contracciones. Inicialmente se producen las contracciones musculares por la acción del frío, que son similares a las provocadas por un estímulo nervioso, produciéndose la liberación de iones calcio,

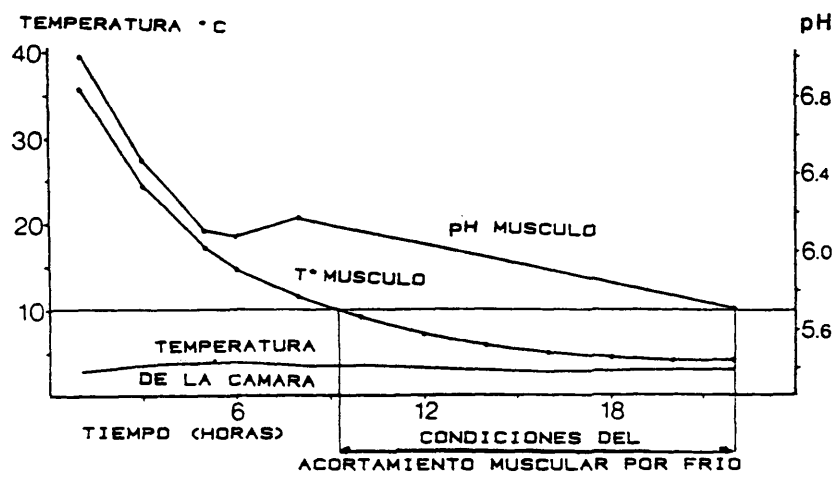


Fig. 2.- Condiciones de pH y temperatura para la aparición del acortamiento muscular por frío.

ya sea del retículo sarcoplásmico (Cassens y Newbold, 1967) o bien de las mitocondrias (Buege y Marsh, 1975), aumentando su concentración en el sarcoplasma de  $10^{-8}M$  a  $10^{-6}M$  y desencadenando la contracción muscular (Bendall, 1966). A este nivel las contracciones son reversibles y la elevación de la temperatura permite la relajación (Bendall, 1978; Cornforth y col., 1980). Si las bajas temperaturas se mantienen, existe una segunda contracción debida al rigor mortis, que resulta irreversible, y provoca un acortamiento muy brusco en las fibras musculares al producirse sobre el músculo contraído (Fig.3).

El aumento de la concentración de iones calcio en el sarcoplasma se explica por una parte debido a su liberación por las mitocondrias, al estar éstas en anaerobiosis (Cassens, 1977), y por otra a la disminución en la capacidad de fijación de iones calcio por el retículo sarcoplásmico, al perder funcionalidad la bomba del calcio a bajas temperaturas (Bendall, 1973; Cornforth, 1980). Bendall (1978) indicó que la capacidad de retener  $Ca^{2+}$  se reduce cuatro veces si la temperatura desciende de  $30^{\circ}C$  a  $15^{\circ}C$ , explicándose, en base a este hecho, el incremento de tres o cuatro veces en la concentración de iones calcio en las miofibrillas, al disminuir la temperatura de  $15^{\circ}C$  a  $0^{\circ}C$ , observado por Davey y Gilbert (1974).

Pero no todas las fibras musculares tienen la misma sensibilidad a las bajas temperaturas (Bendall, 1973). Así, los músculos rojos son más sensibles al tener un mayor número de mitocondrias (Cheah y Cheah, 1978; Cornforth, 1980) y un retículo sarcoplásmico menos desarrollado y activo (Chizzolini, 1978) que los músculos blancos, lo cual explica en parte por qué las canales de ovino y bovino, compuestas principalmente por músculos rojos, sufren el acortamiento muscular por frío, mientras que las canales de porcino, compuestas principalmente por músculos blancos, están mucho menos afectadas por este fenómeno.

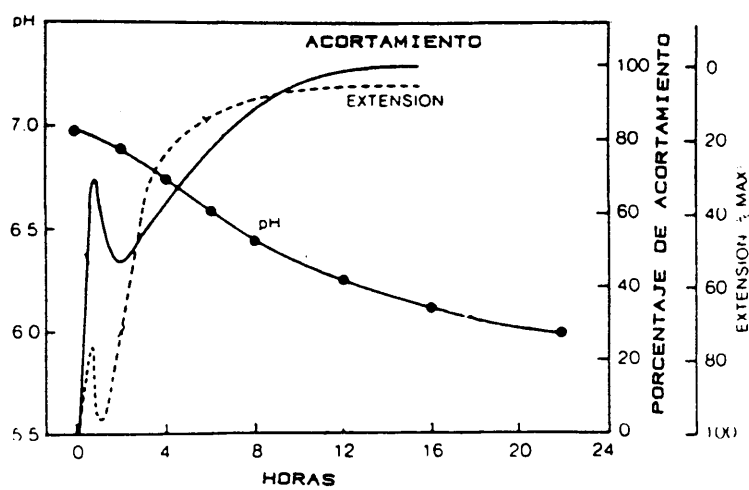


Fig. 3.- Cambios físicos y químicos en el músculo sternomandibularis de vacuno refrigerados rápidamente a 1°C (NEWBOLD, 1966).

#### - RIGOR DE LA DESCONGELACION

Un tipo anómalo de rigor es el denominado "rigor de la descongelación" ("thaw rigor" en su denominación inglesa), que se caracteriza por contracciones muy intensas durante la descongelación de canales congeladas en estado de pre-rigor, provocando acortamientos muy bruscos entre el 40% y el 60%, con liberación de gran cantidad de exudado y dando lugar a una carne dura y poco jugosa.

El mecanismo del rigor de la descongelación es similar al del acortamiento muscular por frío. La variación del acortamiento en ambos fenómenos es análoga, como se puede observar al comparar las figuras 3 y 4, si bien en este caso el acortamiento de las fibras musculares es más marcado debido al efecto de los procesos de congelación y descongelación sobre las estructuras celulares. Okubanio y Stouffer (1975) y Whiting (1980) indicaron que durante el proceso de congelación el retículo sarcoplásmico resulta dañado en mayor o menor medida por la formación de cristales de hielo, y pierde su capacidad de retener  $\text{Ca}^{2+}$ , lo que justifica el aumento de iones calcio en el sarcoplasma durante el proceso de descongelación de canales congeladas en estado de pre-rigor observado por Newbold (1979).

La evolución de la bioquímica post-mortem de los músculos congelados en estado de pre-rigor es muy lenta, permaneciendo las concentraciones de ATP muy próximas a las del músculo del animal recién sacrificado. Cuando durante el proceso de descongelación existen concentraciones de ATP mayores a  $0.3 \mu\text{M/g}$  y de iones calcio de  $10^{-7}\text{M}$  se producen contracciones muy bruscas, que dan lugar a los acortamientos ya indicados (de hasta el 60%), con el consiguiente aumento en la dureza de la carne (Davey y Gilbert 1976).



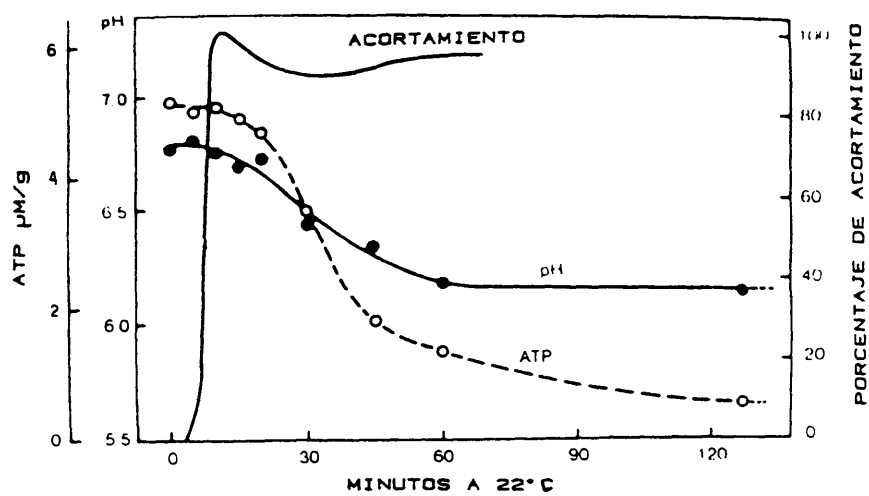


Fig. 4.- Cambios físicos y químicos en el músculo sternomandibularis de vacuno congelado a las 2 horas post-mortem (NEWBOLD, 1966).

#### I.4.- INFLUENCIA DEL ACORTAMIENTO DE LA FIBRA MUSCULAR EN LA DUREZA DE LA CARNE

Marsh y Leet (1966) establecieron una relación entre el grado de acortamiento de la fibra muscular y la dureza de la carne (Fig.5), que permite explicar la variación de este parámetro con la temperatura a que tienen lugar los procesos bioquímicos post-mortem.

Al disminuir la longitud del sarcómero aumenta la dureza de la carne, alcanzándose un máximo para ésta en acortamientos del 40% (Benhke y col.,1973; Marsh y Carse, 1974). Sin embargo, paradójicamente, si éstos acortamientos son superiores al 40% originan una carne más blanda debido a la aparición de zonas de ruptura entre los nudos de contracción (Marsh y Carse, 1974; Chizzolini, 1978; Rosset y col.,1984), siendo, no obstante, la dureza superior a la encontrada para acortamientos entre el 20% y el 30%

#### I.5.- METODOS PARA EVITAR EL ACORTAMIENTO MUSCULAR POR FRÍO Y EL RIGOR DE LA DESCONGELACION

La mala adecuación de la bioquímica post-mortem con los tratamientos frigoríficos van a provocar la aparición de los fenómenos ya descritos del acortamiento muscular por frío y el rigor de la descongelación, que van a producir un endurecimiento de la carne. La incidencia de dichos fenómenos se ha intentado paliar utilizando tratamientos tanto ante-mortem como post-mortem.

##### I.5.1.- Tratamientos ante-mortem

Entre los tratamientos ante-mortem se podrían destacar:

- El empleo de inyecciones de sales de magnesio y calcio (Taylor y col.,1972; García Matamoros y col.,1977). El fin perseguido con el empleo de calcio es provocar un aumento en su

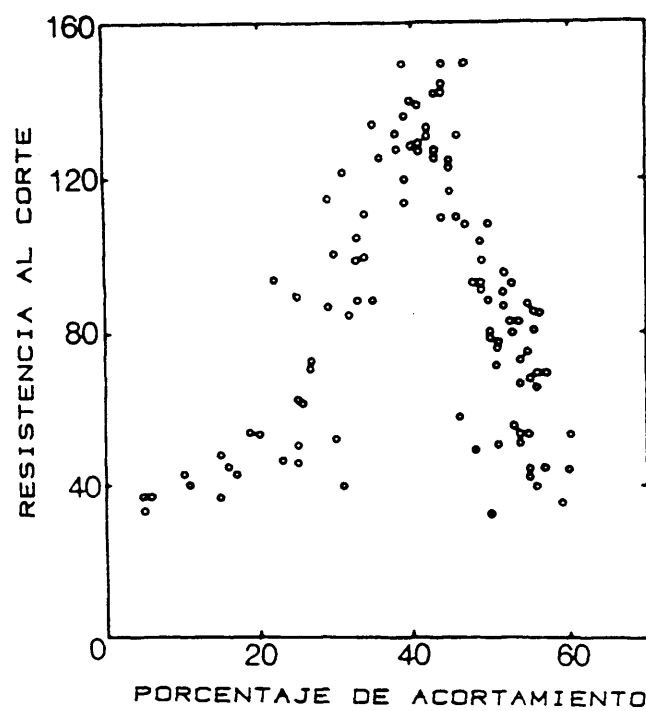


Fig. 5 .- Relación entre el acortamiento de la fibra muscular y la dureza de la carne ( MARSH y LEET, 1966).

concentración que permita la rápida degradación del ATP, obteniendo una disminución de pH a niveles inferiores a 6.2 en períodos de tiempo cortos. El empleo de magnesio se justifica en base a sus funciones relajantes.

- El uso de papaína (Rhodes y Dransfield, 1973) o del Factor Activado por el Calcio (CAF) (Penny y col., 1974), aprovechando sus acciones tenderizantes.

- La utilización de tranquilizantes para evitar situaciones de stress (Bouton y col., 1974) y lograr que el animal llegue al sacrificio con grandes reservas de glucógeno.

#### I.5.2.- Tratamientos post-mortem

Entre los distintos tratamientos post-mortem utilizados se pueden citar: el acondicionamiento de la canal, la modificación en la suspensión de la misma o procedimientos encaminados a la degradación rápida del ATP.

Se denomina acondicionamiento al procedimiento que consiste en mantener las canales a temperaturas por encima de los 10°C hasta que su pH haya descendido por debajo de 6.0-6.2. Según se ha señalado, es a temperaturas entre 14°C y 20°C donde se producen acortamientos menos intensos (Fig.1).

Se han ensayado temperaturas entre los 10°C y los 18°C durante períodos de tiempo comprendidos entre 10 y 48 horas (Follet y Ratcliff, 1969; McRae y col., 1971; Taylor y col., 1972; Braathem, 1973; Frazer, 1977; Rosset y Roussel-Ciquard, 1980; Griffin y col., 1981; Dumont, 1982; Dutson, 1983; etc.), consiguiéndose la degradación del ATP y la instauración del rigor mortis antes de hacer descender la temperatura, evitando el acortamiento muscular por frío. Sin embargo, conviene destacar que este procedimiento plantea algunos inconvenientes, como es, por una parte, la necesidad de disponer de gran número de cámaras climatizadas para el mantenimiento de las canales durante el período de acondicionamiento, y por otra, el gran desarrollo de microorganismos

mos que tiene lugar a estas temperaturas y las elevadas pérdidas de peso que se producen.

Con la suspensión de las canales se produce el aumento en la tensión de algunos músculos durante la instauración del rigor mortis que reduce su grado de acortamiento, originando una carne más blanda (Klose y col., 1971; Abban y col., 1975; Asghar y Pearson, 1980). Sin embargo, el fenómeno no es uniforme y aquellos músculos de la canal que no están sometidos a esta tensión tendrán un grado de contracción mayor, lo que se manifiesta en la mayor dureza de la carne.

Se han estudiado modificaciones en los sistemas de suspensión, como son entre otros el mantenimiento horizontal de la canal, la suspensión pelviana o por el cuello (Hostetler y col., 1970, 1972 y 1973; Valin, 1973; Bouton y col., 1973; Davey y Foster 1977; Aberle y Judge, 1979; Rosset y Roussel-Ciquard, 1980), variando, de un sistema a otro, los músculos sometidos a tensión y, por tanto, su dureza. El inconveniente que presenta la variación de la suspensión tradicional por el tendón de Aquiles es la deformación de las canales, que puede dificultar su despiece, y las adaptaciones que habría que realizar en la cadena de faenado.

Entre los procedimientos encaminados a la degradación rápida del ATP, se ha ensayado el duchado de las canales de corde ro con agua a una temperatura de 50°C y 60°C (Moral y col., 1981), presentando problemas tanto por la aparición de zonas de encharcamiento como por el gran desarrollo de microorganismos, por lo que no ha pasado de la vía experimental.

El método más utilizado en la actualidad es el empleo de la estimulación eléctrica. La aplicación de estímulos eléctricos a la canal tiene como objetivo acelerar la glucolisis post-mortem (Fig.6) y poder realizar la refrigeración rápida, o la congelación de canales recién faenadas sin el riesgo de que tenga lugar la aparición del acortamiento muscular por frío o el rigor de

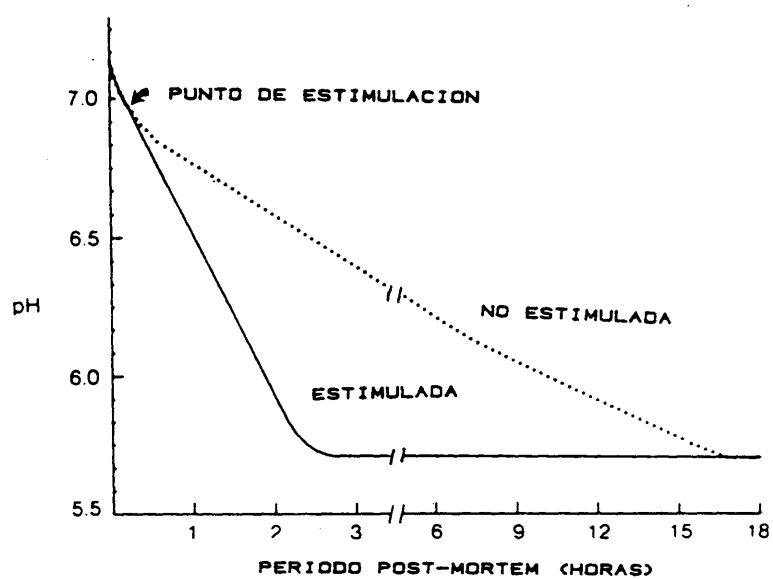


Fig. 6.- Efecto de la aplicación de la estimulación eléctrica sobre el descenso del pH.

la descongelación.

#### I.6.- ESTIMULACION ELECTRICA

El término estimulación eléctrica describe el proceso del paso de una corriente eléctrica a través de la masa muscular del animal recién sacrificado que origina gran número de contracciones en las fibras musculares en un corto período de tiempo, lo que hace que se degrade el ATP y el glucógeno existentes en el músculo. Este hecho acelera la instauración del rigor mortis y permite realizar una refrigeración rápida de la canal, después del faenado, sin el riesgo de un endurecimiento de la carne por el acortamiento muscular debido al frío; además se reducen las pérdidas de peso y el desarrollo de microorganismos, y se produce un ahorro adicional de espacio y tiempo.

##### I.6.1.- Antecedentes históricos

La idea de utilizar los estímulos eléctricos se remonta al año 1749, cuando Benjamín Franklin observó una mayor blandura en la carne de pavo cuando le hacía pasar una corriente eléctrica. Sin embargo, su empleo en la industria de la carne quedaría reducido al proceso de aturdimiento de algunas especies animales.

Dos siglos después, en el año 1951, Harsham y Deatherage, utilizaron la corriente eléctrica como medio para acelerar la glucólisis post-mortem en canales de vacuno y obtener una carne más tierna, siendo los primeros en patentar un estimulador eléctrico. En ese mismo año Rentschler patentó el segundo estimulador eléctrico de la historia. Sin embargo, a pesar de las ventajas que suponía su empleo, no se realizó ningún uso comercial de dichas patentes.

No fue hasta principios de los años setenta cuando in-

investigadores neozelandeses, debido a los graves problemas que encontraban al aplicar la nueva tecnología frigorífica, con períodos cortos de acondicionamiento y tratamientos frigoríficos más intensos y rápidos, estudiaron la estimulación eléctrica, produciéndose un gran desarrollo de la misma.

Ha sido a partir del año 1975 cuando Nueva Zelanda adoptó el sistema de estimulación eléctrica en sus instalaciones industriales de ganado ovino y posteriormente se amplió al ganado vacuno. Esta práctica se ha generalizado y actualmente varios países la han introducido como práctica en la industria de la carne.

La estimulación eléctrica se puede dividir en dos grandes grupos según el voltaje utilizado: alto y bajo voltaje. Se considera como bajo voltaje cuando la tensión empleada es inferior a 150 voltios y de alto voltaje cuando es superior a 200 voltios. El intervalo entre 150 y 200 voltios es difícil de encuadrar en uno u otro grupo y a menudo su clasificación depende de los diferentes autores. Dentro del bajo voltaje el empleo de tensiones inferiores a 45 voltios ha sido denominado, por algunos autores, como extra-bajo voltaje.

Nueva Zelanda, con el uso de voltajes de hasta 3000 voltios en la estimulación de corderos con piel, y Estados Unidos, entre 400 y 550 voltios, son ejemplo de países que emplean el alto voltaje. Entre los países que utilizan el bajo voltaje hay que destacar a Australia, que emplea tensión entre 45 y 110 voltios, Suecia, con 85 voltios, y, últimamente, Francia, que emplea voltajes inferiores a los anteriores.

#### I.6.2.- Factores que condicionan la aplicación de la estimulación eléctrica

El efecto de la estimulación eléctrica va a estar condicionado tanto por factores intrínsecos como por factores extrínsecos.



#### I.6.2.1.- Factores intrínsecos

Entre los factores intrínsecos se pueden destacar la influencia de la especie animal, edad, sexo, tipo de músculo, etc. Houlier (1981) observó el distinto comportamiento de los músculos al ser sometidos a un campo eléctrico de la misma intensidad. Los músculos blancos, con una contracción rápida, son más fáciles de estimular que los músculos rojos, de contracción lenta, debido a la mayor actividad de su ATPasa miofibrilar (Swatland, 1977; Valin, 1978; Monin, 1980).

El efecto de la estimulación eléctrica también va a estar condicionado por la composición heterogénea de la canal y por su forma irregular, que influyen en que el valor del campo eléctrico en cada punto de la misma sea muy variable (Sale, 1980), siendo muy difícil de obtener un mismo efecto de la estimulación eléctrica en todos y cada uno de los puntos. Bendall (1980) observó que al estimular una canal de vacuno con alto voltaje (600 voltios) se producía una caída de potencial de 3 v/cm entre el cuello y el tendón de Aquiles, que era de 2.2 v/cm en el músculo Longissimus Dorsi y sólo de 0.4 v/cm en el músculo Triceps Brachii.

#### I.6.2.2.- Factores extrínsecos

Los factores extrínsecos que condicionan la eficacia de la estimulación eléctrica son, entre otros, la colocación de los electrodos, el tiempo transcurrido entre el sacrificio del animal y la aplicación de la estimulación eléctrica, así como los diferentes parámetros eléctricos utilizados (tipo de corriente, forma de la onda, tensión aplicada, duración y número de impulsos, duración de la estimulación, etc.).

##### a) Colocación de los electrodos

La colocación de los electrodos varía de unos países a

otros; así, en Nueva Zelanda, se utiliza un sistema de electrodos múltiples que contactan con la región dorsal cuando todavía las canales de cordero conservan la piel, mientras que el otro electrodo se sitúa a nivel del tendón de Aquiles en el raíl de suspensión, se emplean voltajes muy elevados, entre 1600 y 3000 voltios para lograr vencer la gran resistencia que ofrece la lana al paso de la corriente. En el caso de canales desolladas se utiliza la misma disposición de los electrodos, pero se aplican voltajes más bajos, de unos 800 voltios (Carse, 1973; Chrystall y Hagyard, 1976; Chrystall, 1980). En Estados Unidos se emplea un electrodo fijo situado en el raíl de suspensión que contacta con la canal en el tendón de Aquiles y el otro electrodo se coloca a nivel de los músculos de la espalda, entre la escápula y las costillas. La tensión aplicada oscila entre 440 y 550 voltios (Savell y col., 1978; Dutson y col., 1980; Riley y col., 1980). En Australia los electrodos se colocan, uno a nivel de la extremidad trasera, entre la unión del Biceps Femoris y el Semitendinosus, y el otro en el músculo Brachiocephalicus con empleo de tensiones entre 45 y 110 voltios. También se ha ensayado la colocación rectal de un electrodo, que excita el plexo nervioso de la región pelviana (Bouton y col., 1978), si bien posteriormente se ha comprobado que no quedan estimulados completamente los músculos del miembro posterior del animal, por lo que no se emplea (Bouton y col., 1980). En Suecia, la situación de los electrodos es la misma que en Australia, pero la tensión es de 80 voltios en pico (Fabiansson y col., 1979; Ruderus y Bergquist, 1980). En Francia los electrodos se colocan en las fosas nasales y en el raíl de suspensión, contactando con la canal a nivel del tendón de Aquiles, utilizando bajos voltajes (85 voltios) (Rozier y col., 1980).

b) Tiempo transcurrido entre el sacrificio y la aplicación de la estimulación eléctrica

El tiempo transcurrido entre el sacrificio del animal y la aplicación de la estimulación eléctrica es un factor importante que va a condicionar el mecanismo de transmisión del estímulo.

El estudio iónico del impulso eléctrico en un músculo aislado fue estudiado por Hodgkin (1965), mientras que fue Katz (1967) quién explicó el mecanismo de despolarización de la membrana por la liberación de acetyl-colina. La transmisión del impulso eléctrico a través del sistema nervioso fue confirmada por Bendall (1976 y 1980) y Swatland (1976) quienes indicaron que las contracciones musculares se producían por la estimulación de los centros nerviosos motores y de las ramificaciones nerviosas a nivel de la unión neuromuscular. La funcionalidad del sistema nervioso persiste durante 15 minutos después de la muerte del animal (Swatland, 1976), cesando por completo a los 30 minutos en cordero (Chrystall y col., 1980). Devine y col., (1979) y Morton y Newbold (1982) observaron que no se producían contracciones musculares al aplicar estímulos de bajo voltaje, entre 12 voltios y 45 voltios, en canales de cordero tratados con curare, ya que bloquea el sistema nervioso central, siendo necesarias tensiones mayores de 200 voltios para provocarlas, transmitiéndose la corriente eléctrica a través de la despolarización de la membrana; esto sugiere que el estímulo eléctrico aplicado durante los primeros 15 minutos post-mortem hace que intervengan las propiedades de excitabilidad y conductibilidad del sistema nervioso. Si se retrasa su aplicación, el sistema nervioso pierde funcionalidad y el estímulo se transmite a través del mecanismo de despolarización de la membrana, siendo necesarios voltajes más elevados para producir las contracciones musculares.

#### c) Parámetros eléctricos

Entre los diferentes parámetros eléctricos que parecen influir en la efectividad de la estimulación cabe destacar: el tipo de corriente, la forma de la onda, la tensión aplicada, la frecuencia, la anchura del impulso y la duración de la estimulación. Si bien, debido a su diversidad, así como a la falta de uniformidad cuando se describen las condiciones de estimulación e incluso falta de homogeneidad de la terminología utilizada, existen dificultades en el momento de comparar estudios de distinto origen.

Por ejemplo, al hablar del voltaje empleado se mencionan indistintamente: la tensión de pico, la tensión media y la tensión eficaz. Asghar y Henrickson (1982) sugirieron que todos los términos eléctricos empleados en publicaciones científicas siguieran normas internacionales.

- Tipo de corriente y forma de la onda.- Apenas existen estudios comparativos sobre la influencia sobre la glucólisis post-mortem y la calidad de la carne entre los diferentes tipos de corriente y forma de onda que se puede emplear.

En la aplicación de la estimulación eléctrica se han empleado fundamentalmente dos tipos de corriente: continua y alterna. Chrystall y Devine (1978 y 1980) indicaron que empleando el mismo voltaje en la estimulación de canales de cordero, la corriente alterna provoca un descenso más rápido del pH que la corriente continua. Además, el uso de la corriente alterna presenta la ventaja de evitar la polarización de los electrodos que se produce al emplear corriente continua. Se evita así la alteración de los tejidos que están en contacto con los electrodos y el aumento de resistencia al paso de la corriente eléctrica por la canal (Sale, 1980).

Aunque el cambio de polaridad no parece ejercer ninguna influencia sobre la velocidad del descenso del pH, en cambio sí la tiene sobre la dureza de la carne, dando lugar su empleo a una carne más blanda (Chrystall y col., 1980), sin que este hecho haya sido explicado satisfactoriamente.

En cuanto a las ondas que se han empleado en la estimulación eléctrica han sido, casi exclusivamente, las de forma sinusoidal y cuadrada. Chrystall y Devine (1978) apenas encontraron diferencias en su efecto sobre las características de la carne.

- Voltaje.- De todos los parámetros eléctricos que condicionan el efecto de la estimulación eléctrica ha sido el voltaje

el más estudiado, habiendo gran divergencia en su utilización, llegándose a emplear voltajes tan altos como 3600 voltios (Chrystall y Hagyard, 1976; Gilbert y Davey, 1976), y tan bajos como 5 voltios (Enamorado y col., 1981; Moral y col., 1984).

El alto voltaje se ha empleado fundamentalmente en Nueva Zelanda y Estados Unidos, utilizando voltajes tan diversos como 3600 voltios (Chrystall y Hagyard, 1976; Gilbert y Davey, 1976), 1600 voltios (Davey y col., 1976; Bendall, 1980), 1100 voltios (Gilbert, 1978), 700 voltios (Bendall y col., 1976), 440 voltios (Savell y col., 1978), 300 voltios (McCollum y Henrickson, 1977), ó 250 voltios (Bendall, 1976).

El empleo de voltajes superiores a 150 voltios requiere adoptar medidas de seguridad muy estrictas, que son más exigentes cuanto mayor es el voltaje empleado. En Estados Unidos se han adoptado las normas indicadas por Anderson (1980) que sugiere el empleo de cabinas de seguridad donde se realice la estimulación eléctrica, junto con otras medidas. El cumplimiento de estas normas exige instalaciones costosas y personal especializado por lo que algunos investigadores estudian la aplicación del bajo voltaje como procedimiento alternativo (Bouton y col., 1978; Jonson y col., 1978; Fabiansson y col., 1979; Taylor y Marshall, 1979; Ruderus y Fabiansson, 1980; Enamorado y col., 1981; Moral y col., 1984; Eikelenboom y col., 1985; Ledward y col., 1986).

El empleo del bajo voltaje tiene una serie de ventajas como son: la sencillez del equipo de estimulación, el menor costo, medidas de seguridad más reducidas, un sangrado más eficaz ya que la estimulación eléctrica se realiza inmediatamente después del sacrificio, etc., si bien su eficacia está condicionada por el tiempo transcurrido entre éste y el momento de aplicación de la estimulación (Fig.7).

Existen pocos estudios comparativos que determinen la mejor eficacia del tratamiento, cuando se realiza en condiciones

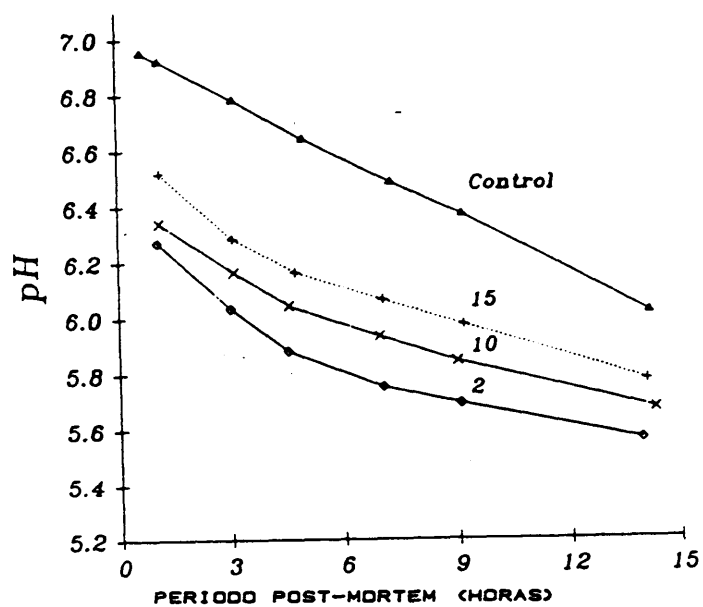


Fig. 7.- Curvas de descenso de pH en canales de corriero no estimuladas (▲, control) y estimuladas con corrientes de bajo voltaje a los 15 min post-mortem (+, 15), a los 10 min. post-mortem (x, 10) y a los 2 min. post-mortem (◇, 2).

similares de estimulación (misma colocación de los electrodos, mismo intervalo entre sacrificio y estimulación, parámetros eléctricos equivalentes, etc.). Mientras que algunos autores indican que el empleo del alto voltaje (200-1100 voltios) es más eficaz que el bajo (12 a 45 voltios) (Carse, 1973; Bendall y col., 1976; Chrystall y col., 1980; Bouton y col., 1980; McKeith y col., 1981; Rashid y col., 1983), otros no han encontrado diferencia alguna entre la estimulación a alto voltaje (300 a 1000 voltios) y a bajo voltaje (20-86 voltios), siempre y cuando ésta se lleve a cabo durante los primeros cinco minutos después del sacrificio (Shaw y Walker, 1977; Eikelenboom y col., 1981).

Como conclusión se podría indicar que el bajo voltaje sólo manifiesta su eficacia si se aplica dentro del período de diez minutos post-mortem, y se transmite a través del sistema nervioso. Transcurrido dicho período son necesarios estímulos superiores empleando voltajes de más de 200 voltios para lograr la transmisión del impulso que se lleva a cabo entonces por la despo-larización de la membrana.

- Frecuencia.- La frecuencia, número de impulsos en la unidad de tiempo, es un parámetro eléctrico importante en la estimulación eléctrica. Se han utilizado frecuencias tan altas como 2400 Hz (Belousov y col., 1981), o tan bajas como 5 Hz (Bouton y col., 1978). Bendall y col., (1976) indicaron que era más importante el número de pulsaciones habidas durante la estimulación que el período de aplicación. Chrystall y Devine (1979) y Rashid y col., (1983), indicaron que la frecuencia no influía en el efecto de la estimulación siempre que estuviera comprendida entre 10 y 16.5 Hz., disminuyendo la eficacia tanto a frecuencias superiores como inferiores.

- Amplitud del impulso.- La variación de la duración del impulso varía enormemente entre los autores, utilizándose impulsos tan largos como 10 s. (Cross y col., 1981) hasta impulsos tan cortos como 2 ms. (Demeyer y Vandehriessche, 1980; Tang y Jenrick

son, 1980). Bendall (1980) y Rashid y col., (1983) indicaron que cuando los impulsos eran menores de 10 ms., no se producía la contracción en todas las fibras musculares y había una pérdida de eficacia en la estimulación.

- Duración de la estimulación.- La duración de la estimulación varia según los autores, habiéndose llegado a emplear tiempos que varían entre treinta segundos y quince minutos, estando condicionada por el voltaje empleado (Davey y col., 1976; Raccach y Henrickson, 1979), siendo menores para altos voltajes que para bajos.

Raccach y Henrickson (1979), indican que la dureza de la carne refrigerada durante 24 horas es la misma que la estimulada a 600 voltios durante 15 minutos, aunque con estimulaciones de un minuto lograron evitar el acortamiento muscular por frío.

Cuando se emplean voltajes altos los períodos de tratamiento varían entre 90 y 120 segundos (Davey y col., 1978; Chrystall y col., 1980), para bajos voltajes el tiempo es de unos 4 minutos, pudiendo reducirse si se acorta el tiempo entre el sacrificio y la aplicación del estímulo (Bouton y col., 1978). Chrystall y Devine (1978) observaron que tanto empleando el alto como el bajo voltaje se produce un rápido descenso del pH durante los primeros 90 segundos de estimulación, luego el descenso es más lento (Fig.8), indicando la conveniencia de emplear períodos de estimulación de 90 segundos.

En la práctica conviene disminuir la duración de la estimulación para no entorpecer el funcionamiento de la cadena de faenado, llegando a una solución de compromiso entre la duración del tratamiento y su eficacia.

#### I.6.3.- Influencia de la estimulación eléctrica en la bioquímica del músculo



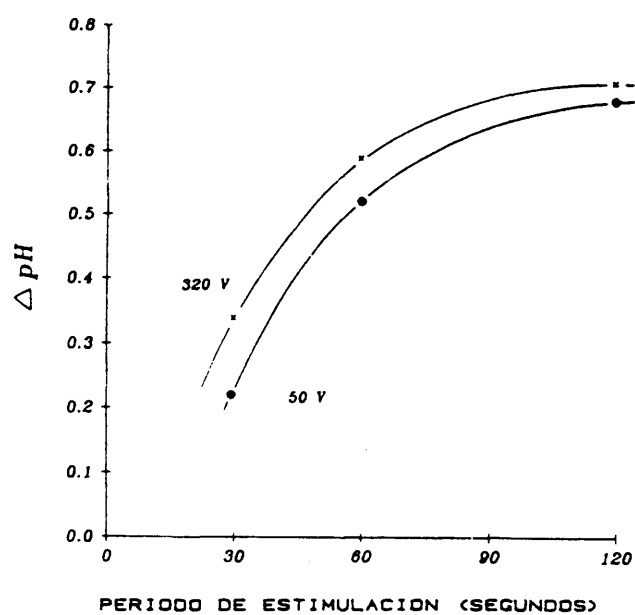


Fig. 8.- Influencia del período de estimulación sobre el descenso de pH, producido por el empleo de dos voltajes distintos (Chrystall y Levine, 1978).

#### I.6.3.1.- Influencia de la estimulación eléctrica sobre la glucolisis post-mortem

La velocidad de la glucolisis post-mortem es tanto menor cuanto más baja sea la temperatura a la que se mantengan las canales. Para músculos de corderos sacrificados en condiciones normales (de alimentación, descanso previo a la matanza, etc.) y que tienen un pH de 7 en el momento del sacrificio, el pH final de 5.7 se logra entre las 16-18 horas siguientes cuando la temperatura se mantiene entre 0°C y 4°C.

La estimulación eléctrica da lugar a un gran número de contracciones en un corto período de tiempo y la hidrólisis rápida del ATP (Bendall y col., 1976; Will y col., 1979) que acelera la glucolisis post-mortem (Dutson y col., 1981) produciendo una degradación de glucógeno a ácido láctico y un descenso del pH (Fig.6).

Algunos investigadores han distinguido dos fases en la glucolisis post-mortem de canales estimuladas; la primera coincide con el descenso muy brusco del pH durante el período de estimulación ( $\Delta pH$ ) que puede llegar a ser de 0.7 unidades de pH, lo que supone una velocidad de glucolisis post-mortem de 100 a 150 veces mayor que la producida en canales no estimuladas (Bendall y col., 1976; Chrystall y Devine, 1978) y la segunda fase, durante el período posterior a la estimulación ( $dpH/dt$ ), en la que la velocidad de descenso del pH es mucho menor, pero que llega a ser todavía de 1.5 a 2 veces más rápida que la normal, hasta que se alcanza el pH final (Bendall y col., 1976).

La estimulación eléctrica con el descenso rápido del pH permite una refrigeración rápida de las canales después del sacrificio, lo que constituye una considerable ventaja. Aunque Locker y Hagyard (1963) indicaron que a pH inferior a 6.3 no se dan las condiciones necesarias para el acortamiento muscular por frío, Bendall (1975) por el contrario, encontró este tipo de fenómenos a pH 6.2 e indicó que son necesarios pH inferiores a 6.0 para evi

tarlo. Mientras que para canales no estimuladas se tarda unas 12 horas en alcanzar un pH 6.0, para canales estimuladas este tiempo se reduce considerablemente en función de las condiciones en que se haya realizado (voltaje, tiempo de estimulación, etc.). Chrystall y Devine (1982) observaron que canales de corderos estimuladas inmediatamente después del sacrificio a 1130 voltios alcanzan valores de pH inferiores a 6.0 en 60 minutos, pero si se estimulaban a los 30 minutos, este tiempo era de 120 minutos. Empleando bajo voltaje (80 voltios) cinco minutos después del sacrificio, se tardaban tres horas en llegar al pH 6.0. Rashid y col., (1983) estimulando canales de corderos a los 15 minutos post-mortem tardaron 4 horas para llegar al pH 6.0, cuando se empleaban voltajes de 350 voltios y más de ocho horas si se empleaban solamente 50 voltios. Esto indica la poca eficacia de la estimulación cuando se dejan pasar más de quince minutos después del sacrificio.

Si se emplean tensiones superiores, del orden de 850 voltios, dejando transcurrir sólo 10 minutos después del sacrificio, se logra alcanzar el pH 6.0 a las dos horas. Cuando se empleaba una tensión de 45 voltios, este período era de cinco horas (Morton y Newbold, 1982). Así pues, aunque la mayoría de los estudios indican que existe una correlación directa entre la velocidad de descenso del pH y el voltaje empleado, West (1980) no encontró diferencias cuando empleaba estímulos entre 500 y 45 voltios.

Las diferencias apreciadas al observar el efecto de la estimulación eléctrica, pueden ser debidas a otros factores diferentes del voltaje. Estos factores pueden ser intrínsecos (diferencia de peso de las canales estimuladas, de los músculos empleados para determinar la glucólisis post-mortem, etc.) o extrínsecos (distinta colocación de los electrodos, del contacto entre el electrodo y la canal, etc.).

Como conclusión se puede indicar que la velocidad de la glucólisis post-mortem va a ser tanto más rápida cuanto mayor sea

el voltaje empleado y menor el tiempo transcurrido entre el sacrificio del animal y la estimulación.

#### I.6.3.2.- Influencia de la estimulación eléctrica sobre las proteínas de la carne

Como la estimulación eléctrica da lugar a un rápido descenso del pH, cuando la temperatura del músculo es aún elevada, se originan ciertas modificaciones en las proteínas musculares como son: desnaturalización, y agregación de las proteínas y fenómenos proteolíticos.

La estimulación eléctrica da lugar a la desnaturalización y agregación de las proteínas sarcoplásmicas, que al precipitar sobre las miofibrillas disminuyen su solubilidad (George y col., 1980; Valin, 1981). No obstante, Rashid y col., (1983) no observaron diferencias en la solubilidad de las proteínas sarcoplásmicas en canales de cordero por efecto de la estimulación. Tampoco se ha visto que la estimulación tenga incidencia alguna sobre la solubilidad de las proteínas estructurales (Judge y col., 1980; Rashid y col., 1983).

Uno de los cambios estructurales producidos por la estimulación eléctrica, que se describirá posteriormente, va a originar la liberación de enzimas proteolíticos, principalmente la cathepsina C y la  $\alpha$  glucoronidasa (Sorinmade y col., 1978; Cross, 1979) que provocan la degradación de la troponina-T y se originan compuestos de unos 30000 dalton (Sonaiya y col., 1982; Kang y col., 1983). Dichos fenómenos degradativos están favorecidos por pH ácidos (Yates y col., 1983) y altas temperaturas (Penny y Dransfield, 1979), han sido relacionados por algunos autores con el aumento de la ténacidad de la carne (Cheng y Parrish, 1978; McKeith y col., 1980; Penny, 1980).

Por otra parte, la liberación de iones calcio durante la estimulación favorece la acción del Factor Activado por el Cal

cio (CAF) y la degradación de la troponina-T (Swatland, 1977).

No conocemos estudios que indiquen la influencia de los parámetros eléctricos sobre las modificaciones de las proteínas musculares, aunque parece lógico suponer que el alto voltaje, al provocar descensos del pH más bruscos, altere en parte la estructura del músculo y por tanto modifique las proteínas del mismo.

#### I.6.4.- Influencia de la estimulación eléctrica en la ultraestructura del músculo

Con la aplicación de la estimulación eléctrica se han observado varios cambios en la ultraestructura del músculo como son: la rotura de las fibras musculares, alteraciones en el sarcómero, modificaciones en los lisosomas y mitocondrias.

Debido a las fuertes contracciones habidas en el músculo durante la aplicación de la estimulación eléctrica, se produce la rotura de la fibra muscular por una acción mecánica (Savell y col., 1978 y 1979) que da lugar a la aparición de bandas de contracción (Dutson y col., 1980; Sorinmade y col., 1982). El número y fuerza de las contracciones es función de las condiciones en que se realice la estimulación, especialmente del voltaje, la colocación de los electrodos y la duración de la estimulación. Los altos voltajes, entre 400 y 700 voltios, provocan una mayor intensidad en las contracciones musculares y por consiguiente una mayor rotura en las miofibrillas que cuando se emplean voltajes bajos, entre 45 y 85 voltios (McKeith y col., 1980; Will y col., 1980). La colocación de los electrodos durante la aplicación de la estimulación eléctrica va a influir sobre una mayor o menor contracción de ciertos músculos, según la distribución del campo eléctrico descrito anteriormente. Así, la posición de los electrodos en situación rectal (Bouton, 1980) produce la menor contracción de los músculos de la extremidad posterior. Tal vez sea esta la explicación de por qué Savell y col., (1978) a pesar de estimular a elevados voltajes (700 voltios) en posición similar no encontró altera

ción en la estructura del músculo semitendinosus y si en el longissimus dorsi. Cuando se aplican corrientes eléctricas durante breves períodos de tiempo, menores de 30 segundos, no se producen ni el número suficiente de contracciones ni con la suficiente intensidad como para provocar la rotura mecánica de las fibras musculares (Davey y col., 1976).

Algunos autores, sin embargo, a pesar de emplear voltajes elevados (700 voltios), no han encontrado modificaciones apreciables en las miofibrillas (George y col., 1980).

El efecto sobre la longitud del sarcómero no parece estar condicionado por la estimulación eléctrica, sino por el tratamiento frigorífico a que son sometidas las canales. Cross (1979) y Smolder y col., (1981) no encontraron diferencias en la longitud del sarcómero entre canales estimuladas y no estimuladas si no se realiza una refrigeración inmediatamente después del faenado del animal. Indicando que el paso de la corriente evitaba el acortamiento muscular por frío. Nichols y Cross (1980) y Within y col., (1980) observaron mayor longitud en el sarcómero de los músculos provenientes de canales estimuladas y congeladas en estado de pre-rigor. Sin embargo, Dutson y col., (1980) a pesar de estimular con elevados voltajes (700 voltios) y de refrigerar lo más rápidamente posible no observaron diferencias en la longitud del sarcómero de músculos procedentes de canales estimuladas o no estimuladas.

La disparidad de resultados encontrados en los cambios estructurales pueden ser debidos tanto a la dificultad en la preparación de las muestras para su observación al microscopio electrónico (Asghar y Henrickson, 1982), como al distinto grado de acortamiento encontrado en las diferentes fibras de un mismo músculo durante la contracción (Marsh y Leet, 1966).

También se han apreciado alteraciones en los lisosomas y en las mitocondrias. Como la estimulación eléctrica, a elevados

voltajes sobre todo, produce un descenso rápido del pH cuando las temperaturas permanecen altas, se produce una rotura de la membrana del lisosoma y la liberación de las enzimas lisosomáticas con acción proteolítica (Moeller y col., 1976; Dutson y col., 1980; Wu y col., 1981), así como alteraciones en las mitocondrias (Will y col., 1980; Cornforth y col., 1980) que provocan la liberación de iones calcio que favorecen la acción del Factor Activado por el Calcio (CAF) (Swatland, 1977).

#### I.6.5.- Influencia de la estimulación eléctrica sobre la calidad de la carne

Hasta ahora se han estudiado las ventajas obtenidas por la aplicación de la estimulación eléctrica con vistas a valorar el ahorro de tiempo, menor necesidad en instalaciones frigoríficas, etc., estudiando un cierto número de parámetros adecuados para medir tecnológicamente la eficacia del proceso.

Ahora vamos a estudiar la incidencia que tiene el proceso sobre la calidad del producto tratado y para ello examinaremos la variación de otros parámetros como la dureza, el color, la jugosidad, etc., que van a determinar el grado de aceptabilidad de la carne y por tanto la eficacia del proceso.

##### I.6.5.1.- Influencia de la estimulación eléctrica sobre la dureza de la carne

La dureza de la carne es uno de los factores más importantes en su aceptación por parte del consumidor. Un gran número de autores hablan del efecto tenderizante producido por la estimulación eléctrica. Esta menor dureza se aprecia tanto al aplicar elevadas tensiones (3600 voltios Chrystall y Hagyard, 1976; 1600 voltios Davey y col., 1976; 1100 voltios Gilbert, 1978; 480 voltios Judge y col., 1980; 300 voltios Sonaiya y Stouffer, 1982), como bajas (85 voltios Ruderus y Bergquist, 1980; 32 voltios Taylor y Marshall, 1980).

McKeith y col., (1981) observaron una menor dureza en la carne procedente de canales de vacuno estimuladas a 550 voltios que en las que se empleó 150 voltios, indicando que la cuantía del fenómeno disminuye cuanto menor es el voltaje empleado y mayor el tiempo transcurrido entre el sacrificio y la aplicación de la estimulación. Dutson (1981) observó al comparar carne procedente de canales estimuladas y no estimuladas, por medio de categorizadores de ganado, que el 83% de ellos indicaron índices de dureza inferiores para la carne procedente de canales estimuladas con bajo voltaje (85 voltios), mientras que el 92% señalaron mayor ternura para las procedentes de la estimulación con alto voltaje (550 voltios).

Se ha establecido una relación entre el voltaje empleado en la estimulación y la dureza de la carne, obteniéndose carnes más blandas cuando se aplican 1100 voltios que cuando se llega solamente a 110 ó a 45 voltios. En todos los casos las canales estimuladas proporcionan una carne más blanda que las no estimuladas, que es mayor cuanto más alto es el voltaje empleado (Bouton y col., 1980).

Los mecanismos por los que la estimulación eléctrica influye sobre la dureza de la carne son dos: uno directo, al provocar daños estructurales en el músculo al alterar las miofibrillas y al producir la liberación de enzimas proteolíticos de los lisosomas, y otro indirecto, al evitar la aparición del acortamiento muscular por el frío o el rigor de la descongelación.

La relación adecuada entre la bioquímica post-mortem y el rápido descenso de la temperatura que se puede conseguir con la estimulación eléctrica, impide el endurecimiento del músculo, debido al acortamiento muscular por frío (Davey y col., 1976; Chrystall y Hagyard, 1976; Bouton y col., 1980).

Las fuertes contracciones provocadas por la aplicación de la estimulación eléctrica originan la rotura mecánica de las



miofibrillas y la aparición de bandas de contracción (Savell y col., 1978 y 1979; Dutson y col., 1980; McKeith y col., 1980). Si bien, también se ha encontrado menor dureza en la carne estimulada, sin que esta se pueda relacionar con alteraciones estructurales de las mismas (George y col., 1980).

Por otra parte, el efecto de la estimulación sobre los lisosomas da lugar a la liberación de las enzimas proteolíticas que actúan sobre las proteínas miofibrilares y las del tejido conectivo, originando el ablandamiento de la carne (Moeller y col., 1976; Sorinmade y col., 1978; Cross, 1979; Dutson y col., 1979 y 1980).

Recientemente se ha establecido una relación entre la degradación de la troponina-T y la variación de la dureza de la carne. Aunque existen indicios que la estimulación eléctrica favorece este fenómeno (Penny y Dransfield, 1979), lo que puede explicar en parte esta acción tenderizante, otros autores como George y col., (1980) no encontraron ninguna relación entre el paso de la corriente eléctrica y la aparición de compuestos de 30000 dalton, procedentes de esta proteína.

#### I.6.5.2.- Influencia de la estimulación eléctrica sobre el color de la carne

Existen discrepancias al evaluar la incidencia de la estimulación eléctrica sobre el color de la carne. Así, unos autores indican que la carne mejora de color en las canales estimuladas, que se manifiesta por ser más roja, más brillante y más uniforme (Cross y col., 1979; Savell y col., 1979; Smith y col., 1980; Riley y col., 1980; Salm y col., 1981), otros no han encontrado diferencias entre la carne procedente de canales estimuladas o no (Grusby y col., 1976; Stiffler y Ray, 1978; Strickland y col., 1979). El mejor color, indicado por algunos autores, se ha observado durante las 24-48 horas de conservación (Smith y col., 1977; Jeremiah y Martin, 1980). Mientras, McKeith y col., (1981) y Dut-

son (1981) llegan a afirmar que el alto voltaje (500-700 voltios) influye más en la mejoría del color que el bajo voltaje. Eikelenboom y col., (1981) y West (1982) al emplear bajos voltajes (45-85 voltios) no observan esta diferencia, obteniéndose en ambos casos mejor color que en la carne procedente de canales no estimuladas.

El color rojo brillante de las carnes estimuladas puede ser debido al elevado porcentaje de oximioglobina presente (Tang y Henrickson, 1980). La formación de oximioglobina está relacionada con el rápido descenso del pH cuando la temperatura aún permanece elevada, lo que produce la inhibición de la actividad respiratoria de las mitocondrias, el oxígeno penetra en el músculo, lo que permite la oxigenación de la mioglobina, dando lugar a la oximioglobina de color rojo brillante (Nichols y Cross, 1980).

También se ha indicado que el rápido descenso del pH, producido por la estimulación, causa una mayor desnaturalización y agregación de las proteínas, desciende la capacidad de retención del agua, lo que produce una liberación de agua en la superficie de la carne, que da lugar a un color más brillante (Pearson y Dutson, 1985).

#### I.6.5.3.- Influencia de la estimulación eléctrica en la capacidad de retención de agua

El efecto de la estimulación sobre la capacidad de retención del agua (CRA) está en relación con el brusco descenso del pH, que va a estar condicionado entre otros factores por parámetros eléctricos, como el voltaje empleado, además de por otros factores como la especie animal, el sexo, la edad, el tipo de alimentación, el músculo empleado en el control, y aún la zona analizada dentro del músculo elegido, que pueden originar variaciones en la CRA, lo que hace muy difícil comparar los diferentes resultados.

Tampoco existe acuerdo entre los diferentes autores,

así unos indican que la aplicación de la estimulación eléctrica reduce la CRA (Chizzolini, 1978; Bouton y col., 1980), mientras que otros indican que no existe efecto alguno por la aplicación del tratamiento (Bendall y col., 1976; Hall y col., 1980; Riley y col., 1980; Thompson, 1981; Rashid y col., 1983).

Debido también a estas variadas influencias los autores obtienen resultados contradictorios cuando se examina la jugosidad de la carne o se observan los resultados de los jurados de degustación. Así, unos autores no encuentran diferencias entre la carne proveniente de canales estimuladas o no (Savell y col., 1977; Smith y col., 1979; Elgasim y col., 1981; Salm y col., 1981), mientras que otros indican que las carnes estimuladas son menos jugosas (Savell y col., 1978; Sorinmade y col., 1978; Bouton y col., 1980).

#### I.6.5.4.- Influencia de la estimulación eléctrica en el sabor de la carne

No se ha observado un efecto claro de la estimulación sobre el sabor de la carne, que ha sido determinado por medio de jurados de degustación. Las opiniones de los diferentes autores también son discordantes, pues mientras unos indican que existe un aumento del 6 al 10% en las canales estimuladas (Savell y col., 1978; Savell y col., 1979; Smith y col., 1980), otros no encuentran diferencias (Elgasim y col., 1981; Salm y col., 1981).

Aunque no se conoce el mecanismo por el cual la estimulación eléctrica puede actuar sobre el sabor, se indica que una de las causas puede ser la aceleración de la glucólisis post-mortem (Dutson y col., 1982) o quizás porque se acelere el proceso de maduración, en cuyo caso juega un papel importante la exopeptidasa li-sosomal (Calkins y col., 1982).

#### I.6.5.5.- Influencia de la estimulación eléctrica sobre la calidad microbiológica de la carne

En general se ha indicado que la estimulación eléctrica influye poco sobre el desarrollo de los microorganismos (Stern, 1980; Gill, 1980; Hall y col., 1980; Jeremiah y Martin, 1980; Taylor y col., 1981; Kotula, 1981). Sin embargo, algunos autores han observado un desarrollo menor en canales estimuladas (Raccach y Henrickson, 1978 y 1980; Riley y col., 1980; Contreras y Harrison, 1981). Para Raccach y Henrickson (1980) este menor desarrollo sería debido a una fase de latencia más prolongada para los gérmenes psicrotrofos, mientras que para Contreras y Harrison (1981) este retraso en el crecimiento también afectaría a la fase logarítmica.

Se ha pretendido explicar este menor desarrollo por el brusco descenso del pH, cuando la temperatura de la canal aún es elevada, que permite la aplicación posterior de un tratamiento frigorífico más intenso. También por la liberación de enzimas proteolíticas que alteran el desarrollo bacteriano (Riley y col., 1980) o por la modificación del potencial de óxido-reducción que permite la aparición de radicales inhibidores del desarrollo bacteriano (Mrigadat y col., 1980).

Casi todos los autores parecen coincidir al indicar la influencia de la estimulación sobre el desarrollo microbiano a la aceleración de la glucólisis post-mortem que permite una refrigeración rápida, sin el riesgo de aparición del acortamiento muscular por frío, prolongando la fase de latencia de los microorganismos, retrasando su desarrollo y alargando el período de conservación de la carne.

Hay que resaltar que la mayor parte de los trabajos efectuados sobre la incidencia de la estimulación sobre las características microbiológicas de la carne se han realizado con empleo de voltajes elevados (300-700 voltios), considerándose importante la realización de estudios con empleo de bajos voltajes (Cross, 1979).

## II.- OBJETIVOS

A la vista de lo expuesto en la primera parte de este trabajo se deduce el interés en profundizar en el estudio de la estimulación eléctrica de extra-bajo voltaje (corrientes eléctricas inferiores a 45 voltios de tensión media), como medio para evitar el acortamiento muscular por frío y el rigor de la descongelación producidos cuando el tratamiento frigorífico se realiza inmediatamente después del faenado del animal. Este acortamiento de tiempo entre el sacrificio y la aplicación del tratamiento frigorífico da lugar a una serie de ventajas tanto económicas (menor necesidad de instalaciones frigoríficas, pérdidas de peso más reducidas, etc.), como higiénico-sanitarias.

Para realizar dicho estudio se emplearán tres tipos de estimuladores con diferentes características eléctricas, uno de tipo industrial, de patente sueca, y otros dos diseñados en España, que abarcan toda la gama de tensiones comprendidas dentro del extra-bajo voltaje. Tanto el estimulador de tipo industrial como uno de los patentados en España tenían condiciones de estimulación fijas, mientras que en el diseñado en el Instituto del Frío estas condiciones podían ser variables, habiéndose estudiado la utilización de corrientes eléctricas de diferente voltaje con y sin cambio de polaridad. El objetivo inicial de este trabajo será establecer las condiciones de estimulación idóneas para evitar el acortamiento muscular por frío en canales de cordero, sometidas a tratamientos frigoríficos intensos inmediatamente después del faenado, para lo cual se determinará la textura de la carne, tanto por métodos instrumentales como sensoriales. También se intentará establecer una relación entre la glucólisis post-mortem y la dureza de la carne estimulada eléctricamente.

Una vez fijadas estas condiciones idóneas de estimulación se procederá a estudiar su influencia sobre las características de la carne de cordero durante el tratamiento y conservación por el frío a temperaturas de refrigeración y congelación, para lo cual se estudiarán parámetros físicos, físico-químicos, bioquímicos y sensoriales.

### III.- MATERIALES Y METODOS

### III.1.- ESPECIE OBJETO DE ESTUDIO

Se han utilizado 105 corderos "merino-entrefino", por ser la raza ovina de mayor distribución a nivel nacional, con un peso comprendido entre 10-12 kgs. en canal.

Previo al sacrificio, los corderos tuvieron un período de reposo cumpliendo el artículo 15 de la Reglamentación Técnico-sanitaria de Mataderos, salas de despiece, centros de contratación, almacenamiento y distribución de carnes y despojos (Boletín Oficial del Estado de 4 de febrero de 1977).

### III.2.- SACRIFICIO Y FAENADO

El sacrificio se realizó por medio de degüello. El posterior faenado industrial de las canales se llevó a cabo en el Matadero General Frigorífico de G.Y.P.I.S.A. (Pozuelo).

### III.3.- ESTIMULACION ELECTRICA

La aplicación de la estimulación eléctrica (dentro de los cinco minutos siguientes al degüello), se realizó en la cadena de faenado inmediatamente después del sangrado del animal, durante 90 segundos.

Se utilizaron dos electrodos-pinzas, colocándose el electrodo positivo en las fosas nasales y el electrodo negativo en el tendón de Aquiles, previo corte en la piel para evitar que ésta actuara como aislante.



### III.3.1.- Características de los distintos estimuladores ensayados

Se han realizado pruebas con tres tipos de estimuladores de impulsos eléctricos, cuyas características se describen a continuación:

Estimulador nº1.- Estimulador de tipo industrial sueco, marca "Le Erick", tipo EE 101. Sus características tecnológicas son:

Tipo de onda: cuadrada, de componente positivo.

Características de la onda:

Tensión de pico 80 voltios.

Frecuencia de señal de 14.3 Hz.

Anchura del impulso de 5.2 ms.

Tensión eficaz de 21.6 voltios.

Tensión media de 5.9 voltios.

Se denominará durante este estudio por su tensión eficaz 21.6 voltios.

Estimulador nº2.- Diseñado en la cátedra de Electrotecnia de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos de la Universidad de Córdoba. Sus características tecnológicas son:

Tipo de onda: cuadrada, de componente positivo.

Características de la onda: pueden ser variables, habiéndose ensayado las siguientes condiciones:

Tensión de pico de 90 voltios.

Frecuencia de señal de 12.96 Hz.

Anchura del impulso de 5.48 ms.

Tensión eficaz de 24 voltios.

Tensión media de 6.39 voltios.

Durante este estudio se denominará por su tensión eficaz

24 voltios.

Estimulador nº3.- Diseñado en el Instituto del Frío (Consejo Superior de Investigaciones Científicas) de patente nº538.762. Sus características tecnológicas son:

Tipo de onda: cuadrada, de componente positivo, componente negativo y ambos componentes conmutados.

Características de la onda:

Tensión de pico de 80 voltios.

Frecuencia de señal de 14.3 Hz.

Anchura del impulso de 0-34.96 ms.

Tensión eficaz variable de 0-56 voltios.

Tensión media variable de 0-40 voltios.

Habiéndose experimentado con 20 voltios y 40 voltios de tensión media, con y sin cambio de polaridad. Durante este estudio se denominará por su tensión eficaz ensayada (creciente, 40 voltios y 56 voltios).

#### III.4.- ESTUDIOS DE LA ESTIMULACION ELECTRICA

Se han realizado dos tipos de experiencias: la primera, encaminada a determinar el efecto de cada uno de los tres tipos de estimuladores indicados sobre las características de la carne y la segunda, a estudiar el efecto de la estimulación eléctrica (cuyos parámetros han sido seleccionados teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la primera experiencia) sobre las características de la carne según el tratamiento aplicado.

##### III.4.1.- Efecto de los distintos estimuladores sobre las características de la carne

###### III.4.1.1.- Ensayos con los distintos estimuladores.

#### III.4.1.1.1.- Estudios con el estimulador de 21.6 voltios de tensión eficaz.

Para probar la eficacia del estimulador de 5.9 voltios de tensión media se realizó una experiencia con 15 corderos, de la manera descrita en la figura 9. Cinco corderos fueron estimulados (EE-1) y junto con otros cinco que no lo fueron (RR-1) se sometieron a una refrigeración rápida. Los cinco corderos restantes (MN-1) fueron refrigerados de manera lenta.

#### III.4.1.1.2.- Estudios con el estimulador de 24 voltios de tensión eficaz.

El estudio con el estimulador de 6.39 voltios de tensión media se realizó con 9 corderos, según se indica en la figura 10. Tres corderos fueron estimulados (EE-2), y junto con otros tres que no lo fueron (RR-2) se refrigeraron rápidamente. Los tres restantes se sometieron a una refrigeración lenta.

#### III.4.1.1.3.- Estudios con el estimulador de tensión eficaz variable.

Para probar el estimulador diseñado en el Instituto del Frío, y debido a la posibilidad de modificar las características de la onda, se realizaron los siguientes ensayos:

##### a) Aplicación de tensiones eficaces crecientes.

El estudio de la tensión media creciente se ha realizado en nueve corderos (Fig.11), tres de los cuales han sido estimulados (EE-3) con una corriente de 5 voltios de tensión media durante 10 segundos, aumentando progresivamente a 10, 20, 30 y 40 voltios, a intervalos de 20 segundos. Los tres corderos estimulados (EE-3) y tres que no lo fueron (RR-3) son sometidos a una refrigeración rápida. Los tres restantes (MN-3) fueron refrigerados lentamente.

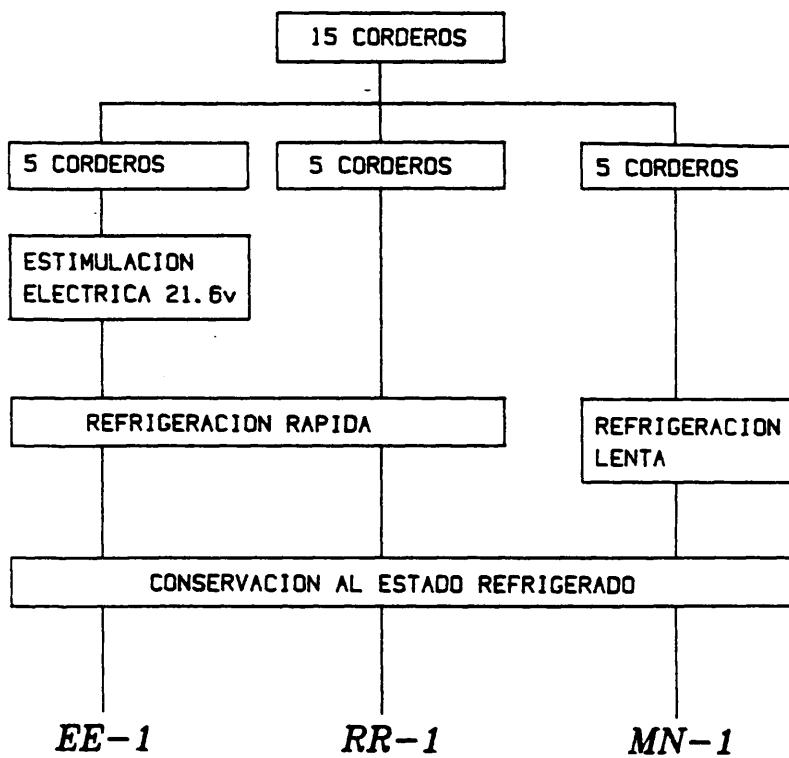


Fig. 9.- Diagrama del diseño experimental realizado para el estudio de la estimulación eléctrica de tensión eficaz de 21.6 voltios.

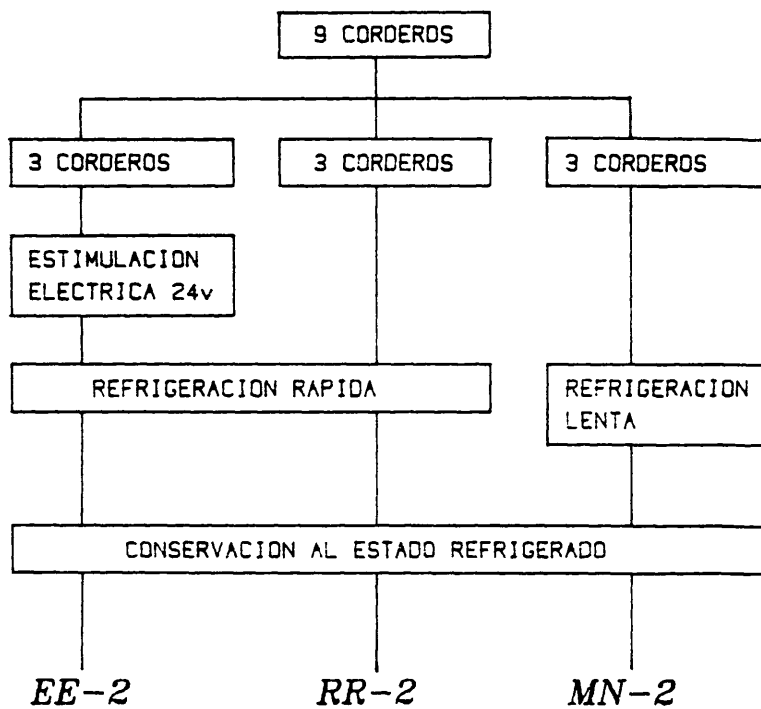


Fig. 10.- Diagrama del diseño experimental realizado para el estudio de la estimulación eléctrica de tensión eficaz de 24 voltios.

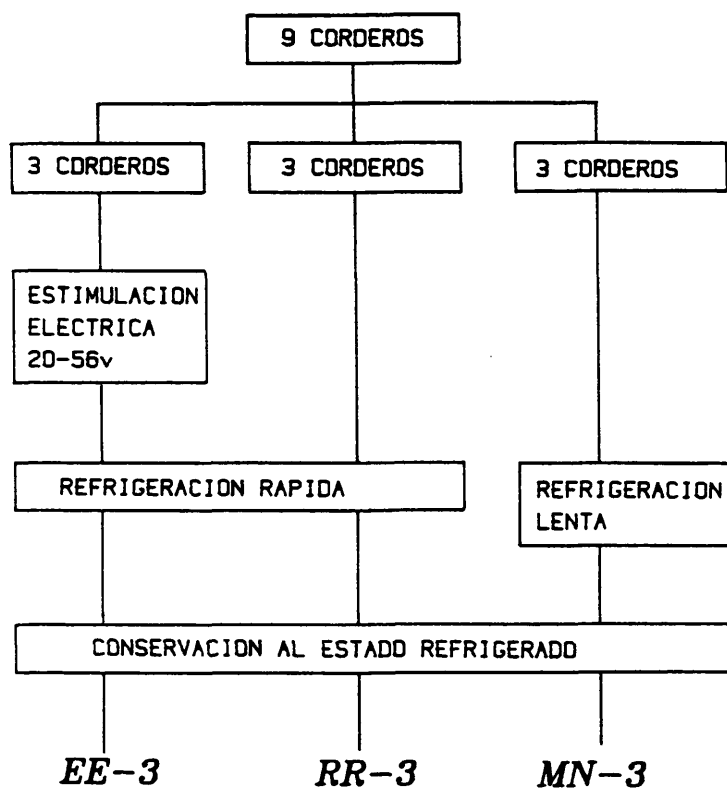


Fig. 11.- Diagrama del diseño experimental realizado para el estudio de la estimulación eléctrica de tensión eficaz creciente de 20 a 56 voltios.

- b) Aplicación de 40 voltios de tensión eficaz con y sin cambio de polaridad.

El estudio se realizó sobre 12 corderos, según se describe en la figura 12. Seis corderos fueron estimulados con una corriente de 20 voltios de tensión media, tres sin cambio de polaridad (EE-4) y los otros tres con cambio de polaridad cada 10 segundos (EEC-4). Los seis corderos estimulados y tres de los que no lo fueron (RR-4) se refrigeraron rápidamente. Los tres restantes no estimulados (MN-4) se sometieron a una refrigeración lenta.

- c) Aplicación de 56 voltios de tensión eficaz con y sin cambios de polaridad.

Para analizar el efecto de la estimulación a 40 voltios de tensión media con y sin cambios de polaridad se utilizaron 18 corderos (Fig.13). Doce fueron estimulados, tres de ellos sin cambio de polaridad (EE-5), tres con cambio de polaridad cada 5 segundos (EEC5-5), otros tres con cambio de polaridad cada 10 segundos (EEC10-5), y los tres restantes con cambio de polaridad cada 20 segundos (EEC20-5). Los doce corderos estimulados y tres que no lo fueron (RR-5) se sometieron a refrigeración rápida, mientras que los tres restantes se refrigeraron lentamente (MN-5).

#### III.4.1.2.- Tratamientos frigoríficos.

Las condiciones de enfriamiento de las canales, señaladas en el apartado anterior, se han realizado en la Planta Piloto del Instituto del Frío y son las siguientes:

- refrigeración rápida.- La refrigeración rápida se llevó a cabo en túnel de refrigeración a  $-5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , con una velocidad del aire de 2 m/s y humedad relativa entre el 80-85%, durante un período de 6 horas.

- refrigeración lenta.- La refrigeración lenta se efec-

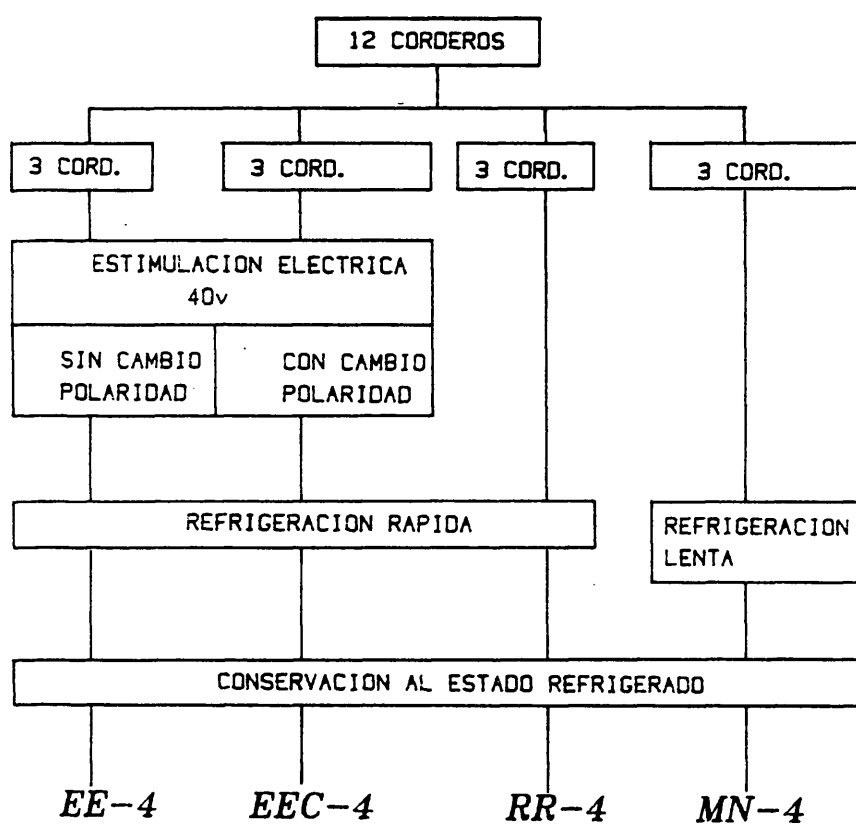


Fig. 12.- Diagrama del diseño experimental realizado para el estudio de la estimulación eléctrica de tensión eficaz de 40.voltios, con y sin cambio de polaridad.



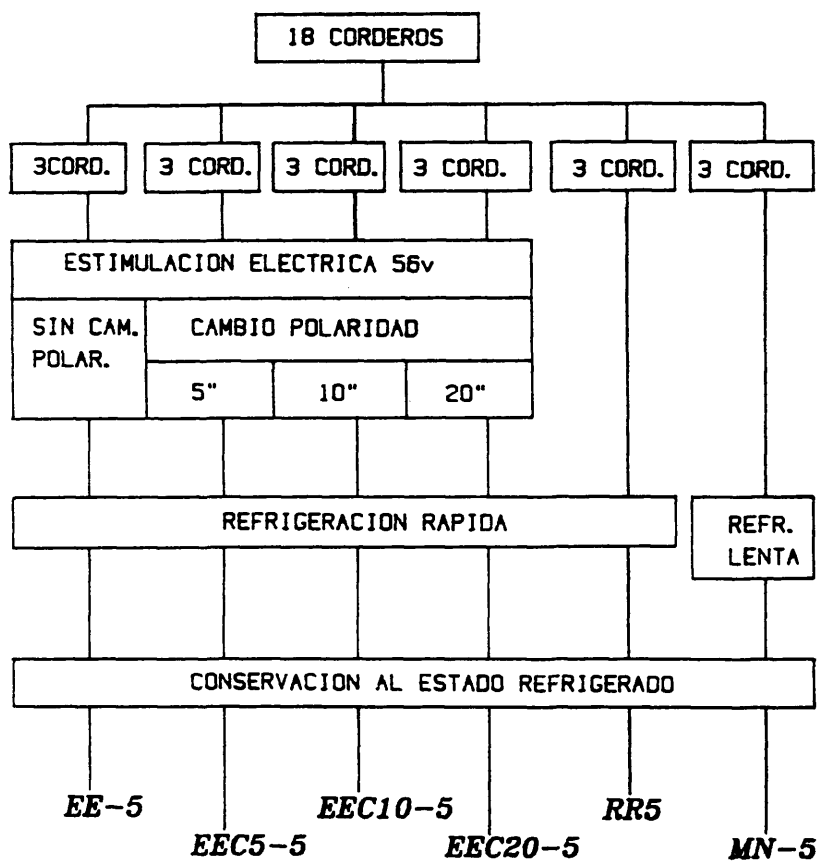


Fig. 13.- Diagrama del diseño experimental realizado para el estudio de la estimulación eléctrica de tensión eficaz de 56 voltios, con y sin cambio de polaridad.

tuó durante 24 horas a  $+6^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , con una velocidad del aire de 0.5 m/s y humedad relativa entre el 80-85%.

Una vez enfriadas las canales mediante los procedimientos indicados, se procedió a su conservación al estado refrigerado, durante un período de 10-12 días, a  $+1^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , con una velocidad del aire de 0.2 m/s y humedad relativa entre 80-85%.

#### III.4.1.3.- Estudio de las características de la carne.

Debido a que el fenómeno del acortamiento muscular por frío se manifiesta fundamentalmente por la mayor dureza de la carne, ésta se determinó de manera periódica a lo largo de la conservación mediante:

- métodos instrumentales: Warner-Bratzler  
Célula de Kramer
- métodos subjetivos: análisis sensorial.

Determinándose además durante las 48 horas post-mortem el pH y la temperatura.

#### III.4.2.- Efecto de la estimulación eléctrica en las características de la carne en función del tratamiento frigorífico aplicado.

El efecto de la estimulación eléctrica sobre las características de la carne se ha estudiado durante la conservación, tanto al estado refrigerado como al congelado, teniendo en cuenta la aplicación industrial de esta tecnología y la problemática que conlleva.

##### III.4.2.1.- Condiciones de estimulación.

En función de los resultados obtenidos con los tres estimuladores ensayados, en cuanto al efecto de la estimulación eléc-

trica sobre la dureza de la carne, se ha seleccionado el estimulador diseñado en el Instituto del Frío con los siguientes parámetros de estimulación:

- Tensión media: 40 voltios.
- Tensión de pico: 80 voltios.
- Tensión eficaz: 56 voltios.
- Frecuencia: 14.3 Hz.
- Cambio de polaridad cada 10 segundos.
- Período de estimulación: 90 segundos.

#### III.4.2.2.- Refrigeración y conservación al estado refrigerado.

El efecto de la estimulación eléctrica sobre las características de la carne conservada al estado refrigerado se ha realizado utilizando 12 corderos, según se describe en la figura 14. Cuatro corderos fueron estimulados (EER) en las condiciones descritas en el apartado III.4.2.1. Estos corderos, junto con otros cuatro (RRR) se refrigeraron rápidamente. Los cuatro corderos restantes se sometieron a refrigeración lenta (MNR). Los tres lotes se conservaron al estado refrigerado durante un período de 15 días.

Las condiciones de refrigeración tanto rápida como lenta son las descritas en el apartado III.4.1.2.

##### III.4.2.2.1.- Estudio de las características de la carne.

Para comparar la influencia de los tratamientos se realizaron distintos tipos de análisis con periodicidades diferentes.

Durante las primeras 48 horas se llevaron a cabo las siguientes determinaciones:

- temperatura
- pH
- glucógeno

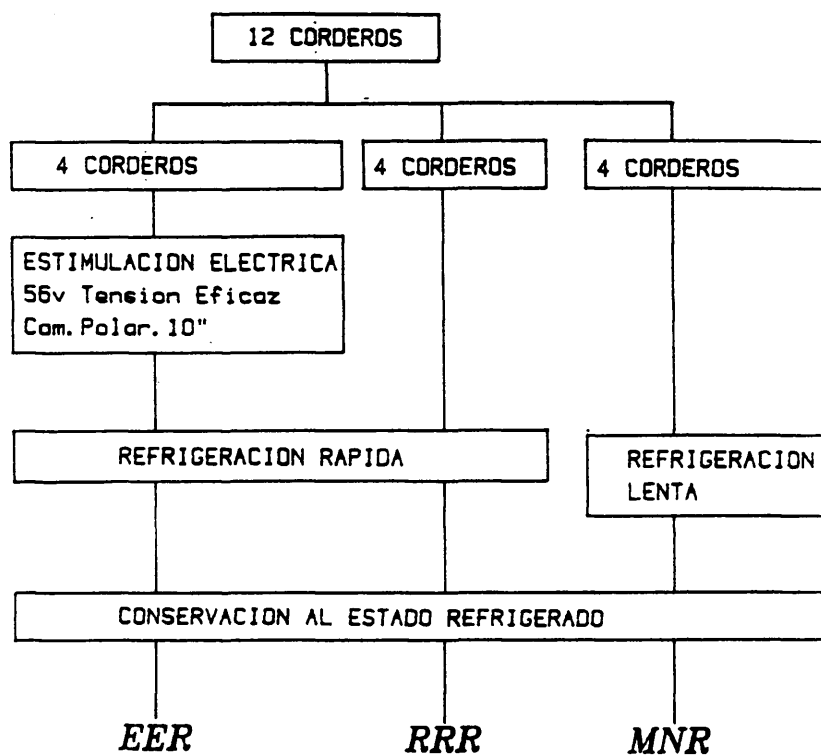


Fig. 14.- Diagrama del diseño experimental realizado para el estudio de la estimulación eléctrica de 56 voltios de tensión eficaz y cambio de polaridad cada 10 segundos, durante la refrigeración y conservación al estado refrigerado.

- ácido láctico
- ATP y sus productos de degradación
- valor R
- capacidad de retención de agua (CRA).

La medida de estos parámetros se realizó a las 0, 2, 4, 6, 8, 12, 24 y 48 horas, a excepción de la CRA, que se llevó a cabo a las 2, 4, 8, 24 y 72 horas.

Las muestras destinadas a la valoración del glucógeno, ácido láctico y ATP fueron congeladas en nitrógeno líquido y mantenidas a  $-24^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su utilización.

A lo largo del período de conservación se realizaron, además, las siguientes determinaciones:

- control bacteriológico:
  - enumeración de gérmenes viables
  - recuento de microorganismos psicrotrofos
  - recuento de enterobacteráceas
- estudio electroforético de las proteínas miofibrilares
- medida del color
- determinación de la resistencia al corte en la célula de Kramer
- análisis sensorial.

#### III.4.2.3.- Congelación y conservación al estado congelado.

El efecto de la estimulación eléctrica sobre las características de la carne durante la congelación y conservación al estado congelado se realizó utilizando treinta corderos (Fig.15), de los cuales diez fueron estimulados (EEC), siendo sometidos junto con otros diez que no lo fueron (RRC) a congelación cuatro horas después de su sacrificio. Las diez canales restantes (MNC) se mantuvieron en cámara de refrigeración a  $+6^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, pa

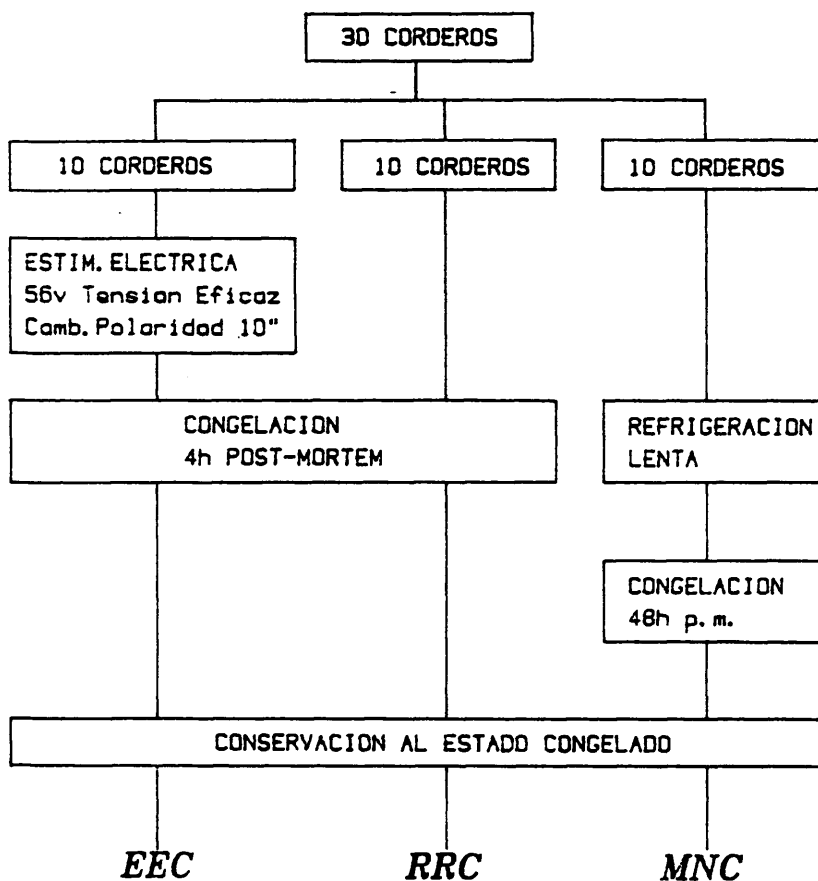


Fig. 15.- Diagrama del diseño experimental realizado para el estudio de la estimulación eléctrica de 56 voltios de tensión eficaz y cambio de polaridad cada 10 segundos, durante la congelación y conservación al estado congelado.

sando posteriormente a cámara de  $+1^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  hasta las 48 horas post-mortem, procediéndose seguidamente a su congelación.

La congelación se llevó a cabo a  $-30^{\circ}\text{C}$ , con una velocidad del aire de 5 m/s y una humedad relativa entre el 95-100%, hasta alcanzar  $-18^{\circ}\text{C}$  en el centro térmico de la canal, comprobado a través de termopares.

La conservación al estado congelado, durante doce meses, se realizó en cámara a  $-18^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , con una velocidad del aire de 0.2 m/s y una humedad relativa entre el 95-100%.

#### III.4.2.3.1.- Estudio de las características de la carne.

El efecto del tratamiento aplicado se determinó mediante el análisis de la carne tanto antes de proceder a su congelación como a lo largo de su conservación al estado congelado (72 horas y 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 y 12 meses).

Los parámetros estudiados, que se realizaron después de descongelar las canales de cordero en cámara a  $+3^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , con una humedad relativa del 80-85%, durante 36 horas, fueron los siguientes:

- pérdidas de peso durante la congelación, conservación al estado congelado y descongelación
- análisis microbiológico
- índice del ácido 2-tiobarbitúrico
- estudio de la solubilidad proteica
- estudio electroforético de las proteínas miofibrilares
- capacidad de retención de agua
- estudio del color
- determinación instrumental de textura
- análisis sensorial.

### III.5.- CARACTERISTICAS TECNICAS DE LAS INSTALACIONES FRIGORIFICAS.

El tratamiento frigorífico de las canales se realizó en las instalaciones de la Planta Piloto del Instituto del Frío. Las instalaciones frigoríficas utilizadas fueron: túnel de refrigeración, túnel de congelación y cámaras de conservación.

#### III.5.1.- Túnel de refrigeración.

La refrigeración de las canales de cordero se realizó en una cámara con un volumen de  $15 \text{ m}^3$  y una capacidad para 500 Kg. Dicha cámara está aislada con poliestireno estruado con un espesor variable entre 25 y 35 cm.

El sistema de enfriamiento es por transmisión indirecta por medio de etilenglicol que actúa como fluido frigorífero, y como fluido frigorígeno el Freón 22.

La ventilación de la cámara es forzada, teniendo un coeficiente de recirculación entre 10 y 30.

#### III.5.2.- Túnel de congelación.

La congelación se realizó en una cámara con un volumen de  $17 \text{ m}^3$  y una capacidad para 2000 Kg. Dicha cámara está constituida por paneles de poliuretano de densidad superior a  $40 \text{ Kg/m}^3$ , con un espesor de 12 cm y chapas de acero galvanizado.

El sistema frigorífico está integrado a su vez por dos: uno de carácter estático o de enfriamiento por gravedad, formado por placas o radiadores murales con un área de transmisión de  $30 \text{ m}^2$ , por los que circula una mezcla de etilenglicol y agua al 50%, y otro de expansión directa con válvulas termostáticas y evaporadores en el techo con aire forzado, utilizando el R-502 como fluido



frigorígeno. Dicha cámara tiene una potencia frigorífica de 9000 Kcal/hora.

#### III.5.3.- Cámaras de conservación.

Para la conservación de las canales de cordero tanto al estado refrigerado como al congelado se han utilizado cámaras con un volumen de 24 m<sup>3</sup> y de capacidad variable. Estas cámaras están aisladas con poliuretano con un espesor comprendido entre 13 y 23 cm.

El sistema de enfriamiento es de transmisión indirecta, actuando como fluido frigorígeno el R-22 y como fluido frigorífero etilenglicol. La circulación del aire se realizó por convección forzada con un coeficiente de recirculación entre 10 y 30.

Las temperaturas de las cámaras se regularon a  $+1^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  para la conservación al estado refrigerado con una humedad relativa del 80-85% y a  $-18^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  para la conservación al estado congelado con una humedad relativa del 95-100%.

#### III.6.- METODOLOGIA EMPLEADA

Los diferentes parámetros que se han analizado para determinar el efecto de los tratamientos a que se sometieron las canales sobre las características de la carne y que se recogen en los apartados III.4.2.2.1 y III.4.2.3.1 se describen a continuación.

##### III.6.1.- Determinación de la temperatura.

La medida de este parámetro y la del pH se realizaron tanto en el matadero de G.Y.P.I.S.A. como en los laboratorios del Instituto del Frío, según el momento en que era necesario efectuar su

determinación.

La medida se realizó en el músculo gluteobiceps, utilizando un termómetro digital portátil marca Crison, modelo T-637, dotado con una sonda de penetración de platino.

Los valores son media de dos determinaciones.

#### III.6.2.- Determinación del pH.

En el matadero la determinación del pH se efectuó mediante un pH-metro portátil digital, marca Crison, modelo 506, con un electrodo combinado de penetración, de 0.4 cm de diámetro, marca Ingold P 6531.

En los laboratorios del Instituto del Frío se llevó a cabo macerando 3-5 g de carne en Iodoacetato 0.005 M neutralizado, en la proporción 3:10. Las medidas se efectuaron en un pH-metro Radiometer PHM 63 provisto de un electrodo combinado Ingold M 2207, de vidrio, con elemento interno de  $\text{Ag-ClA}_3$  y un electrodo de referencia de calomelano Radiometer tipo K 401, con compensación manual de temperatura.

Las determinaciones se realizaron en el músculo gluteobiceps siendo los valores dados medias de cuatro determinaciones.

#### III.6.3.- Determinación del glucógeno.

La medida del glucógeno se realizó en el músculo longissimus dorsi empleando el método del reactivo de antrona (Scipter y col., 1950) con las modificaciones introducidas por Carroll y col., (1956).

La técnica se basa en la hidrólisis ácida del glucógeno a 100°C, con la aparición inmediata de glucosa y su transformación en metilfurfural, complejo coloreado que tiene una absorción máxi-

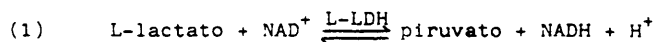
ma a 620 mn. El color desarrollado es estable durante varias horas a temperatura ambiente.

Los resultados, que se expresan como unidades de glucosa por gramo de muestra (U.G./g), son media de cuatro determinaciones.

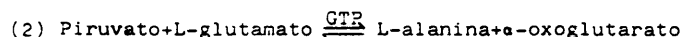
#### III.6.4.- Determinación del ácido láctico.

La determinación del ácido láctico se realizó, en el músculo longissimus dorsi, por la prueba enzimática UV nº139.084 de Boehringer Mannheim S.A.

Esta técnica se basa en que en presencia del L-lactato deshidrogenasa (L-LDH) (1.1.1.27) el ácido láctico es oxidado por la adenin nicotinamida dinucleótido ( $\text{NAD}^+$ ) a piruvato<sup>(1)</sup>.



El equilibrio de esta reacción está desplazado hacia el L-lactato. Sin embargo, el descenso de concentración de piruvato en una segunda reacción (2), catalizada por la enzima glutamato piruvato transaminasa (GTP) (2.6.1.2) en presencia del L-glutamato, hace que se desplace el equilibrio de la primera reacción en favor de la formación de piruvato y NADH

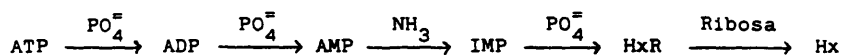


El contenido del NADH formado en la primera reacción es estequiométrico con el del ácido L-lactato y se determina por su absorbancia a 340 mn.

Los resultados son media de cuatro determinaciones y se expresan como  $\mu\text{M}$  de ácido láctico por gramo de carne ( $\mu\text{M/g}$ ).

### III.6.5.- Determinación del ATP y sus productos de degradación.

La degradación del ATP indica la evolución de la bioquímica post-mortem del músculo (Khan y Frei, 1971; Davidez y Velisek, 1973) y transcurre de la siguiente manera:



ATP - Adenosín 5' trifosfato  
 ADP - Adenosín 5' difosfato  
 AMP - Adenosín 5' monofosfato  
 IMP - Inosín 5' monofosfato  
 HxR - Inosina  
 Hx - Hipoxantina

La determinación del ATP y sus productos de degradación se ha realizado tanto por métodos directos como indirectos.

#### III.6.5.1.- Determinación del ATP y sus productos de degradación por métodos directos: Cromatografía Líquida de Alta Eficacia (C.L.A.E.).

El análisis del ATP y sus productos de degradación se realizó mediante C.L.A.E.

#### - Preparación de la muestra.-

Se efectuó siguiendo el método de Currie y col., (1982) sobre músculo de longissimus dorsi congelado. En un Omnimixer se homogenizaron 3 g. de carne con 10 ml. de ácido perclórico 0.5 M (2°C) durante 45 s., que posteriormente fue filtrada a través de papel Whatman n°1, permaneciendo en nevera hasta el momento de su utilización. En el momento de la determinación de estos compuestos se neutralizó, siguiendo la técnica de Chen y col. (1977) con KOH al 30%, eliminándose el precipitado resultante mediante centrifuga

ción a 10000 rpm durante 20 mn a 2°C. Las muestras se hicieron pasar a través de un filtro Millipore de 0.45  $\mu$ m, siendo desgasificadas por ultrasonidos antes de proceder a su inyección en el cromatógrafo.

- Equipo cromatográfico.-

El equipo de cromatografía de líquidos está compuesto por: una bomba LKB 2150, inyector Rheodyne 7125, un detector de longitud de onda variable LKB 2152 y un integrador Shimadzu C-R3A.

- Condiciones cromatográficas.-

La separación se llevó a cabo sobre una columna  $\mu$ -Bondapak-NH<sub>2</sub>, siendo las condiciones cromatográficas las siguientes:

fase móvil: mezcla del 85% de una solución de  
 $\text{PO}_4\text{H}_2\text{NH}_4$  0.25 M de pH 5.0 y del 15% de  
una solución  $\text{PO}_4\text{H}_2\text{NH}_4$  0.01 M de pH 3.0  
flujo: 1 ml/mn  
detección: 254 nm, 0.08 AUFS  
volumen de inyección: 20  $\mu$ l.

La mezcla de tampones que constituye la fase móvil se preparó con agua Millipore Milli Q e inmediatamente antes de proceder a la separación cromatográfica se la hizo pasar a través de un filtro Millipore de 0.45  $\mu$ m, desgasificándose mediante helio.

- Identificación.-

La identificación del ATP y sus productos de degradación se realizó comparando los tiempos de retención de los patrones utilizados, ATP y Hx (Merck 1432 y 4517) ADP, AMP, IMP y HxR (Boehringer Mannheim 236.675, 102.202, 106.704 y 106.658), con los de las muestras analizadas.

- Cuantificación.-

La cuantificación se llevó a cabo por áreas, utilizando para la determinación del factor de respuesta el procedimiento de calibración del patrón externo, a dos concentraciones distintas (Fig. 16).

Los resultados son media de cuatro determinaciones y se expresan como micromoles por gramo de muestra ( $\mu\text{M/g}$ ).

#### III.6.5.2.- Determinación del ATP y sus productos de degradación por métodos indirectos: valor R.

El método indirecto se llevó a cabo en el músculo longissimus dorsi, mediante la determinación del valor R, que establece una relación entre la IMP, HxR y Hx, con un máximo de absorción sobre 250 nm, y los nucleótidos de la adenina (ATP, ADP y AMP) con un máximo a 260 nm.

$$\text{valor R} = \frac{\text{Ab.250}}{\text{Ab.260}} = \frac{\text{IMP} + \text{HxR} + \text{Hx}}{\text{ATP} + \text{ADP} + \text{AMP}}$$

La determinación se realizó siguiendo la técnica de Honikel y Fischer (1977), que tiene la ventaja de ser sencilla y rápida.

Los valores dados son media de cuatro determinaciones.

#### III.6.6.- Capacidad de retención de agua.

La determinación de la capacidad de retención de agua (CRA) se realizó en el músculo pectineus, siguiendo el método de presión de Grau y Hamm (1957), con las modificaciones introducidas por Jolley (1980).

Los resultados, que son media de seis determinaciones, se expresan como porcentaje de agua libre respecto al agua total.

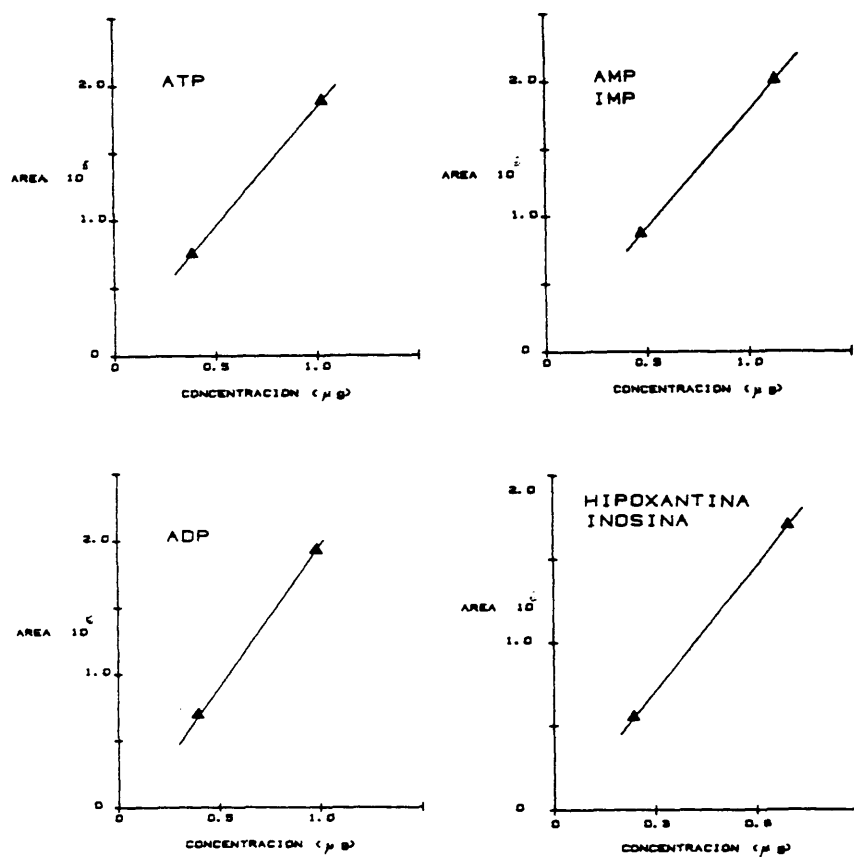


Fig. 16.- Curvas de calibración del ATP, ADP, AMP-IMP e Inosina-Hipoxantina para su determinación mediante Cromatografía Líquida de Alta Eficacia.

### III.6.7.- Control microbiológico.

Los análisis microbiológicos llevados a cabo, se realizaron en condiciones de esterilidad en cabina de flujo laminar, modelo Telstar, tipo AH-10.

La toma de muestras se efectuó según la técnica de García-Matamoros y col.(1967). Cada muestra de 10 g. se homogenizó en un Stomacher, modelo 400 Colworth, durante 2 minutos, con 90 ml. de una solución de agua de pectona estéril al 1% (Difco). Se obtuvo así la dilución madre que se corresponde con la dilución  $10^{-1}$  de la muestra. A partir de 1 ml de ésta, se obtuvo la dilución  $10^{-2}$  añadiendo asépticamente 9 ml de agua peptonada. Mediante la repetición sucesiva de dicho procedimiento se prepararon las diluciones decimales necesarias en cada caso.

La lectura de las colonias se realizó en aquellas placas en las que su número estaba comprendido entre 30 y 300. La cantidad de gérmenes por gramo de muestra se calculó multiplicando el número de colonias por el factor de dilución de la placa correspondiente, siendo este valor media de dos determinaciones.

Los análisis realizados fueron:

- Enumeración de gérmenes viables.-

El medio de cultivo empleado fue el Agar para Recuento en Placa (PCA) (Oxoid CM 325). De cada dilución decimal se tomaron alícuotas de 1.0 ml que fueron depositados en placa de Petri, sobre la que posteriormente se añadieron 15 ml del medio de cultivo estéril, enfriado entre 40-50°C, mezclándose suavemente hasta conseguir una perfecta distribución. Las placas fueron incubadas a 31°C durante 72 horas, siguiendo las recomendaciones del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (1982).

- Recuento de microorganismos psicrótrofos.-



El medio de cultivo empleado fue el Agar para Recuento en Placa (PCA) (Oxoid CM 325). De cada dilución decimal se sembró un inóculo de 0.1 ml sobre la superficie del medio de cultivo vertido en placas de Petri y solidificado a 37°C durante las 24 horas anteriores a la siembra. La extensión del inóculo se realizó mediante varilla de vidrio acodada, esterilizada a la llama antes de cada operación. La incubación se realizó a 21°C durante 25 horas, siguiendo la técnica de Oliveira y Parmelee (1976).

- Recuento de Enterobacteriaceae.-

El medio de cultivo empleado fue el Agar-dextrosa-cristal violeta-rojo neutro (V.R.B.A.) (Oxoid CM 107). La siembra se realizó del mismo modo que en la enumeración de gérmenes viables, incubándose las placas a 31°C durante 18 horas, siguiendo las recomendaciones del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (1982).

III.6.8.- Estudio de las proteínas.

Las modificaciones en las características de las proteínas en función del tratamiento aplicado se han estudiado tanto a través de variaciones de solubilidad como de cambios porcentuales de las proteínas miofibrilares medidos en electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE).

III.6.8.1.- Estudio de las proteínas miofibrilares en SDS-PAGE.

La variación porcentual de las proteínas miofibrilares se llevó a cabo por electroforesis en gel de poliacrilamida en presencia de dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE), siguiendo la técnica de Porzio y Pearson (1977).

La extracción de las proteínas miofibrilares se realizó siguiendo la técnica de Etlinger y Fischman (1973), partiendo de 5 g del músculo longissimus dorsi. La concentración de proteína se

determinó por el método Kjeldhal.

La preparación de los geles se realizó según el método de Porzio y Pearson (1977), empleando en cada gel 50  $\mu$ g de proteínas miofibrilares y un colorante, pironina, que actúa como marcador del frente.

La electroforesis se realizó en un equipo que consta de una cubeta de electroforesis en tubo, marca ATTO, con capacidad para doce tubos de gel de poliacrilamida y con una fuente de alimentación marca ATTO, modelo 5j-1065.

La electroforesis se llevó a cabo aplicando, durante los primeros 30 minutos una corriente de 0.5 mA por gel, aumentando posteriormente a 1 mA, hasta que el frente llega a 5 mm del extremo del gel (aproximadamente 11 horas).

El teñido y desteñido de los geles se llevó a cabo según la técnica de Weber y Osborn (1969). Teniendo en cuenta la variación en la longitud del gel de poliacrilamida durante el proceso de teñido y desteñido, la movilidad electroforética de cada proteína se calculó según la fórmula de Weber y Osborn (1969):

$$\text{Movilidad electroforética} = \frac{\text{longitud del gel antes de teñir}}{\text{longitud del gel después de teñir} \times \frac{\text{migración de la proteína}}{\text{migración del colorante}}}$$

Las proteínas miofibrilares se identificaron comparando su movilidad electroforética con la de las proteínas patrones, de alta pureza, de bajo y alto peso molecular (Fig.17):

Bajo peso molecular	Fosforilasa b (94000)
(Pharmacia n°ref. 17-0445-01)	Seroalbúmina bovina (67000)
	Ovoalbúmina (43000)
	Anhidrasa carbónica (30000)
	Tripsina inhibidor (20100)
	Lactoalbúmina (14400)

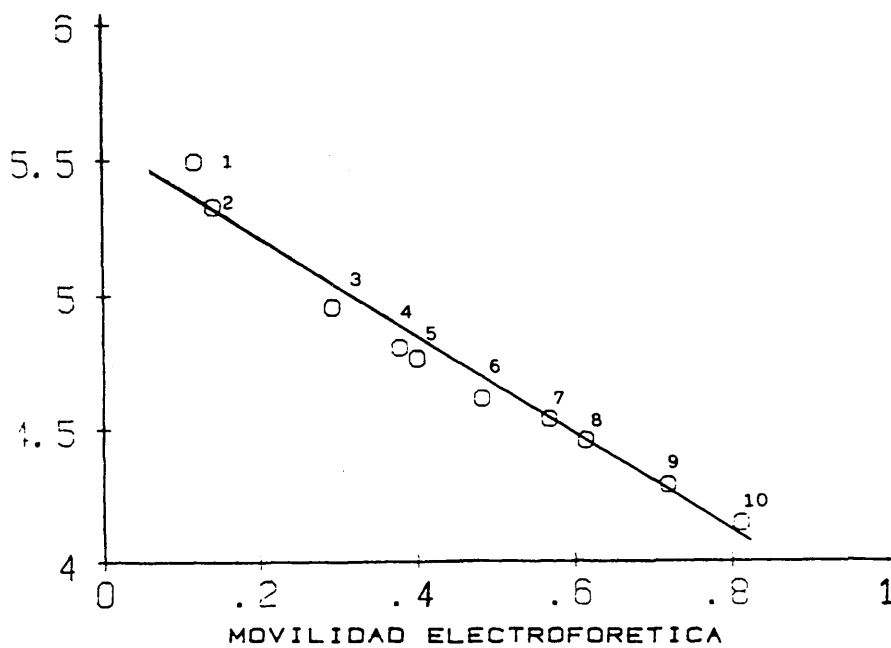


Fig. 17.- Curva de calibrado para la determinación del peso molecular de las proteínas miofibrilares a partir de la movilidad electroforética de las siguientes proteínas patrones: (1) Tiroglobulina, (2) Ferritina, (3) Fosforilasa b, (4) Seroalbúmina bovina, (5) Catalasa, (6) Ovoalbúmina, (7) Lactato deshidrogenasa, (8) Anhidrasa carbónica, (9) Tripsina inhibidor y (10) Lactoalbúmina.

Alto peso molecular (Pharmacia nºref. 17-0445-01)	Tiroglobina (330000)
	Ferritina (220000)
	Seroalbúmina bovina (67000)
	Catalasa (60000)
	Lactato deshidrogenasa (36000)

La determinación cuantitativa se realizó en un densitómetro Chromoscan MKII, utilizando filtro rojo y en transmisión. Los resultados son media de cuatro determinaciones y se expresan como:

$$\frac{\text{Area de la proteína}}{\text{Area total}} \times 100$$

#### III.6.8.2.- Determinación de la solubilidad proteica.

El método está basado en la disminución de la solubilidad de las proteínas del músculo (principalmente actomiosina) en soluciones salinas (ClNa al 5%) durante la congelación y posterior conservación al estado congelado.

La técnica de extracción de proteína utilizada fue la de Ironside y Love (1958). Si bien, en lugar de utilizar un homogeneizador Marsh-Snow se usó un Omnimixer. El músculo empleado para realizar esta determinación fue el vastus lateralis.

Una vez separadas las proteínas solubles e insolubles, la cantidad de nitrógeno se determinó por el método Kjeldahl.

El factor de conversión para obtener la proteína fue de 6.25 (Proteína = 6.25 x Nitrógeno).

Los resultados, que son media de cuatro determinaciones, están expresados como:

$$\text{Proteína soluble (\%)} = \frac{\text{Proteína soluble}}{\text{Proteína total}} \times 100$$

### III.6.9.- Pérdidas de peso.

La determinación de las pérdidas de peso habidas durante la congelación y conservación al estado congelado se realizó mediante pesadas sucesivas antes del proceso de congelación (P.I.), inmediatamente después del proceso de congelación (P.C.), antes de descongelar (P.D.) y una vez descongelada la canal (P.F.).

La diferencia de peso entre P.I. y P.C. nos indica la pérdida de peso habida durante el proceso de congelación.

La diferencia de peso entre P.C. y P.D. nos indica la pérdida de peso producida en la conservación al estado congelado.

La diferencia de peso entre P.D. y P.F. nos indica la pérdida de peso producida en el proceso de descongelación.

Las pérdidas de peso se expresan en tanto por ciento.

### III.6.10.- Índice del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA).

La técnica utilizada fue la de Lemon (1975), que se basa en la reacción entre el ácido 2-tiobarbitúrico y el malonaldehído o sus tautómeros (epihidral y oxiacroleína) originados en la auto-oxidación de los lípidos para dar lugar a la formación de un compuesto rojo (Schmid-Hebbel, 1966) (Fig.18), que presenta el máximo de absorción a 532 nm. (Sinnhuber y Yu, 1977). La determinación se realizó en el músculo vastus lateralis.

Los valores, que son media de cuatro determinaciones, están expresados como  $\mu$ M de malonaldehído por cien gramos de muestra. ( $\mu$ M/100 g).

### III.6.11.- Medida del color.

La determinación del color se llevó a cabo en un colorímetro

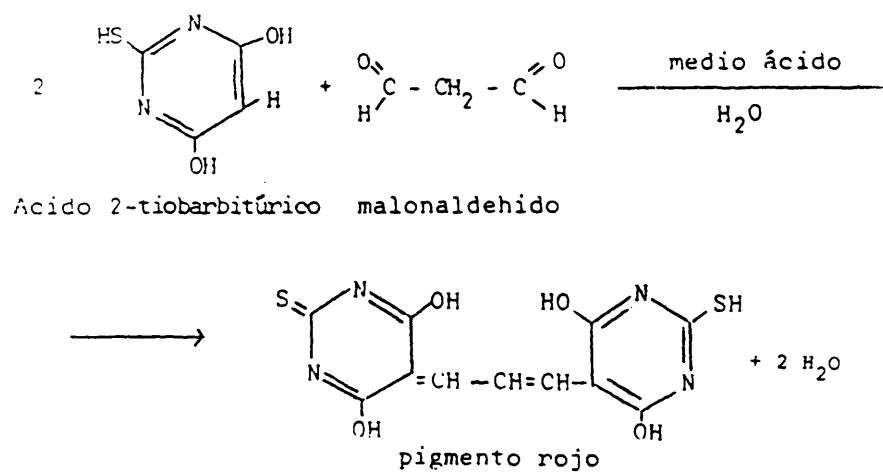


Fig. 18.- Reacción del malonaldehído con el ácido 2-tiobarbitúrico (Sinnhuber y Yu, 1977).

tro triestímulo para medir cuerpos opacos Hunter-Lab, modelo D25-2.

Las coordenadas que definen el color de las muestras en el Hunter son los valores L, a, b. L es un índice fotométrico y va ría de 0 (negro) a 100 (blanco). a y b son índices cromáticos que varían de -100, +100 y permiten localizar el color (a tono rojizo (redness), b tono amarillo (yellowness)) en el plano perpendicular al eje L (Fig.19).

El ajuste de los valores L, a, b se realizó en cada caso mediante una placa de referencia L= 68.5, a= 22.6 y b= 11.2.

Las medidas se realizaron utilizando el músculo biceps femoris, troceado en una picadora manual con un tamaño de orificio de 2 mm de diámetro. La muestra picada se sitúa entre dos cristales arrefringentes, con un centímetro de separación entre ellos.

Cada determinación es media de diez valores, cinco por cada cara.

#### III.6.12.- Análisis objetivos de textura.

El análisis instrumental de textura fue llevado a cabo utilizando un texturómetro Instron, modelo 1140, adaptándole la célula de Kramer y la de Warner-Bratzler.

Las muestras se sometieron a baño María a 100°C, durante 50 minutos, introducidas en frascos de cristal cerrados herméticamente, dejándose enfriar posteriormente a temperatura ambiente (20°C).

##### III.6.12.1.- Resistencia al corte en la célula de Kramer.

La célula de Kramer, desarrollada por Kramer y col.(1951) está siendo utilizada en el control de calidad de muchos productos alimenticios. La respuesta mecánica del producto al ser sometido

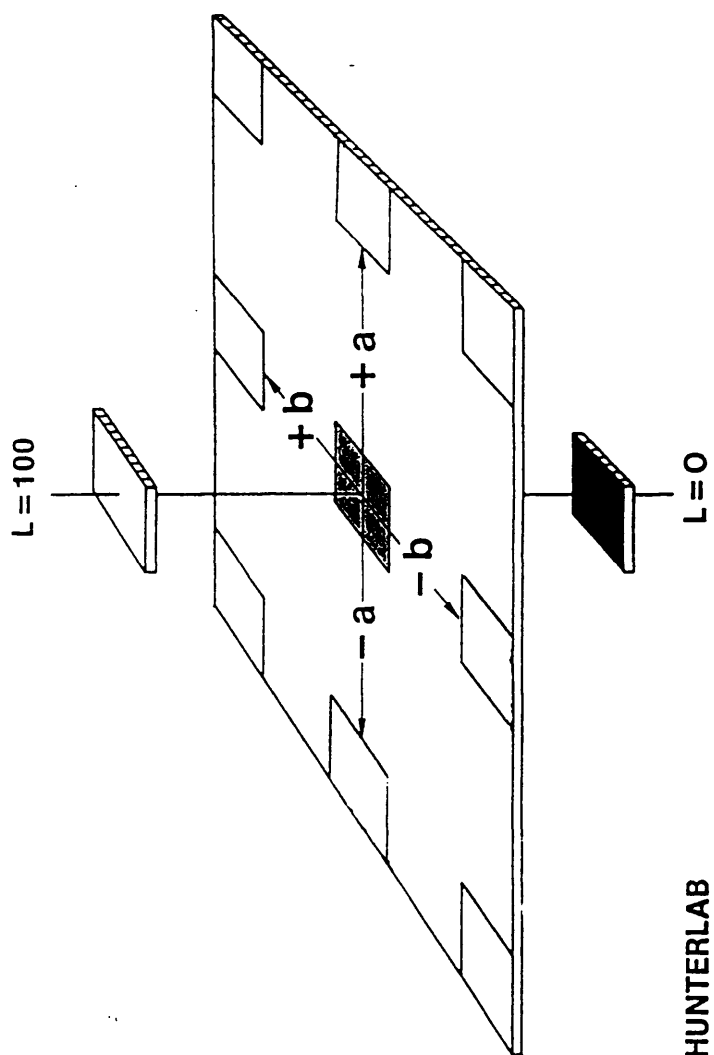


Fig. .- Esquema de los parámetros Lab determinados en un colorímetro triestímulo Hunterlab.



al ensayo con dicha célula se consideró al principio como resistencia al corte. Posteriormente, algunos autores (Szczesniak y col., 1963; Touraille y Sale, 1977), han demostrado que dicha respuesta se debe inicialmente a la compresión, posteriormente al corte, y, por último, a la extrusión, asemejándose al proceso de masticación realizado por el hombre.

La determinación de este parámetro se realizó en el músculo semimembranosus, del que, una vez cocido, se separaron cinco fracciones de 1 x 1 x 6 cm, con la dirección de las fibras paralelas al eje mayor de la muestra, con un peso medio de  $8 \pm 2$  g.

Las condiciones instrumentales utilizadas fueron: velocidad del cabezal y del papel 100 mm/min y 80 mm/min respectivamente, cabezal de 500 Kg en un rango de 0-100 Kg.

El valor más alto de la curva se considera como medida de resistencia al corte (Touraille y Sale, 1977), expresándose los resultados, que son media de diez determinaciones, como kilogramo fuerza por gramo de muestra (Kg/g).

#### III.6.12.2.- Resistencia al corte por el aparato de Warner-Bratzler.

El aparato de Warner-Bratzler fue descrito por Bratzler (1932) y ha sido el método más empleado para medir la resistencia al corte de la carne.

Para la determinación de este parámetro se utilizó el músculo semitendinosus, del que una vez cocido se extrajeron con un sacabocados seis porciones cilíndricas de 12 mm de diámetro y 25 mm de longitud.

Las condiciones instrumentales ensayadas son las siguientes: velocidad del cabezal y del papel 100 mm/min y 80 mm/min respectivamente, cabezal de 50 Kg en un rango de 0-20 Kg.

La fuerza máxima requerida para cortar la muestra se denomina resistencia al corte, que coincide con el punto más alto de la curva (Voisey, 1976).

Los resultados, que son media de diez determinaciones, se expresan como kilogramos fuerza por centímetro cuadrado de muestra ( $\text{Kg}/\text{cm}^2$ ).

#### III.6.13.- Análisis sensorial.

El análisis sensorial se llevó a cabo en el Instituto del Frío, por un equipo de catadores, compuesto por cinco personas semi-entrenadas, pertenecientes al mismo. Para su realización se utilizó una sala de cata de acuerdo con las especificaciones recogidas en la propuesta UNE 33119.

Los parámetros obtenidos por medio del jurado de degustación constituyen un índice de calidad muy importante, ya que, con independencia de otros índices de calidad estudiados, son los que van a reflejar la aceptación o el rechazo del producto por el consumidor.

El análisis organoléptico se determinó sobre el músculo gluteus superficialis. Inmediatamente después de su cocción, fue dividido en porciones de aproximadamente 40 g y mantenido en caliente, mediante calentaplatos, hasta el momento de su análisis por el jurado de degustación. Se requirió de cada catador la valoración de los siguientes parámetros (Fig.20), definidos según la escala que a continuación se indica:

- dureza: definido como la propiedad texturométrica manifestada por la resistencia persistente a la rotura durante la masticación (Jowitt, 1974). Para el estudio de este parámetro se utilizó una escala estructurada mixta entre 1 y 7 puntos, siendo 1: muy blanda; 2: blanda; 3: algo blanda; 4: normal; 5: algo dura; 6: dura y 7: muy dura.

FECHA:

NOMBRE:

Indicar el término que se corresponda con tu opinión

---

<u>DUREZA</u>	<u>ACEPTABILIDAD GENERAL</u>
7 Muy dura	7 Muy buena
6 Dura	6 Buena
5 Algo dura	5 Bastante buena
4 Normal	4 Regular
3 Algo blanda	3 Bastante mala
2 Blanda	2 Mala
1 Muy blanda	1 Muy mala

---

DUREZA

ACEPTABILIDAD GENERAL

OBSERVACIONES:

Fig. .- Formulario empleado para la valoración sensorial de las muestras por un jurado de degustación.

- aceptabilidad general: definida como la sensación oral general de aceptación o rechazo manifestada por el jurado de degustación. Los catadores debían responder a una escala estructurada mixta entre 1 y 7 puntos, siendo 1: muy mala; 2: mala; 3: bastante mala; 4: regular; 5: bastante buena; 6: buena y 7: muy buena.

#### III.6.14.- Tratamiento estadístico de los datos.

Con objeto de analizar desde el punto de vista estadístico los resultados obtenidos, se utilizó un ordenador Hewlett-Packard 85. El nivel de significación entre las diferencias de los valores medios se obtuvo por análisis de varianza usando el test de Tukey.

Para el estudio de los datos obtenidos de los análisis del ácido 2-tiobarbitúrico y solubilidad proteica se realizaron curvas de regresión, que fueron determinadas por el procedimiento de mínimos cuadrados, utilizando el programa "PAIRED" de Hewlett-Packard. El grado de significación fue establecido por una prueba F y la bondad del ajuste por el índice de regresión r.

En el caso de los valores obtenidos de la determinación de glucógeno, ácido láctico y ATP y sus productos de degradación, fué calculada la desviación típica de las réplicas.

Para la determinación de la resistencia al corte medida por la célula de Kramer y Warner-Bratzler y la dureza medida por análisis sensorial, el grado de significación de las diferencias entre los distintos tratamientos se obtuvo por análisis de varianza de una vía utilizando el programa "ONEAOV" de Hewlett-Packard.

Los coeficientes de correlación establecidos entre determinaciones distintas se llevó a cabo con el programa "PAIRED" de Hewlett-Packard, estableciendo la significación de la correlación por las tablas de Lamotte (1981).

#### IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

#### IV.1.- ESTUDIO DEL EFECTO DE LOS DISTINTOS TIPOS DE ESTIMULADORES SOBRE LAS CARACTERISTICAS DE LA CARNE.

La efectividad de los distintos tratamientos realizados se determinó observando, por una parte, la evolución de la temperatura y el pH durante las 24 horas post-mortem (p.m.) y, por otra, la evolución de la dureza de la carne a lo largo de la conservación al estado refrigerado, determinada tanto por métodos instrumentales (célula de Kramer y Warner-Bratzler) como a través del análisis sensorial.

##### IV.1.1.- Determinación de la temperatura y el pH.

Los valores correspondientes a la determinación de la temperatura y el pH se recogen en las tablas III, IV, V y VI.

La evolución de la temperatura durante el período estudiado va a estar condicionada, lógicamente, por el tratamiento frigorífico efectuado. Se han observado diferencias significativas a partir de las 3 horas p.m. entre las muestras refrigeradas rápidamente y lentamente, hecho que se mantiene a lo largo del período estudiado.

La aplicación de la estimulación eléctrica no ha provocado un aumento en la temperatura de las canales; comportamientos similares han sido descritos por algunos autores al emplear bajos voltajes (Eikelenboom y col., 1981: 1985; Smulders y col., 1983; Fabiansson y Laser Reuterswärd, 1985). Los aumentos en la temperatura de la canal por el empleo de la estimulación eléctrica se han asociado con la utilización de altos voltajes (Davey y col., 1976; Eikelenboom y col., 1981: 1985), pudiendo llegar a ser este aumento de hasta 8°C (George y col., 1980), si bien esta variación de temperatura no siempre tiene lugar cuando éstos son aplicados (Whiting y col., 1981; Schroeder y col., 1982; Rashid y col., 1983; Verbeke y

Tabla III.- Determinación del pH y la temperatura durante el estudio de la estimulación de 24 voltios de tensión eficaz.

Período post-mortem (h)	pH			Temperatura		
	MN-2	RR-2	EE-2	MN-2	RR-2	EE-2
A.E. (1)	-	-	7.04			
D.E. (2)	-	-	6.82			
1/4	6.74 <sup>a,b</sup>	6.81 <sup>a</sup>	6.64	38.4 <sup>x</sup>	38 <sup>x</sup>	38.8 <sup>x</sup>
1	6.55 <sup>a</sup>	6.63 <sup>b</sup>	6.49 <sup>a</sup>	30.1 <sup>x</sup>	29.7 <sup>x</sup>	31.2 <sup>x</sup>
3	6.31 <sup>a</sup>	6.47 <sup>b</sup>	6.25 <sup>a</sup>	24.2 <sup>x</sup>	12.1 <sup>y</sup>	12.6 <sup>y</sup>
6	5.92 <sup>a</sup>	6.12 <sup>b</sup>	5.98 <sup>a</sup>	15.6 <sup>x</sup>	2.9 <sup>b</sup>	3.1 <sup>y</sup>
9	5.74 <sup>a</sup>	5.89 <sup>b</sup>	5.77 <sup>a</sup>	10.4	1.7 <sup>y</sup>	1.5 <sup>y</sup>
12	5.77 <sup>a</sup>	5.75 <sup>a</sup>	5.69 <sup>a</sup>	6.9 <sup>x</sup>	1.2 <sup>y</sup>	1.3 <sup>y</sup>
24	5.69 <sup>a</sup>	5.75 <sup>a</sup>	5.73 <sup>a</sup>	6.5 <sup>x</sup>	0.9 <sup>y</sup>	1.2 <sup>y</sup>

(1) A.E.- Análisis realizado antes de la aplicación de la estimulación eléctrica.

(2) D.E.- Análisis realizado después de la aplicación de la estimulación eléctrica.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla IV.- Determinación del pH y la temperatura durante el estudio de la estimulación de tensión eficaz creciente.

Período post-mortem (h)	pH			Temperatura		
	MN-3	RR-3	EE-3	MN-3	RR-3	EE-3
A.E. (1)	-	-	6.92			
D.E. (2)	-	-	6.43			
1/2	6.81 <sup>a</sup>	6.73 <sup>a</sup>	6.31 <sup>b</sup>	37.1 <sup>x</sup>	37.9 <sup>x,y</sup>	38.4 <sup>x</sup>
1 y 1/2	6.62 <sup>a</sup>	6.56 <sup>a</sup>	6.03 <sup>b</sup>	27.3 <sup>x</sup>	24.4 <sup>y</sup>	25.4 <sup>y</sup>
3	6.42 <sup>a</sup>	6.39 <sup>a</sup>	5.97 <sup>b</sup>	23.1 <sup>x</sup>	12.0 <sup>y</sup>	12.3 <sup>y</sup>
5	6.15 <sup>a</sup>	6.31 <sup>b</sup>	5.88 <sup>c</sup>	16.0 <sup>x</sup>	5.2 <sup>y</sup>	5.1 <sup>y</sup>
8	5.94 <sup>a</sup>	6.03 <sup>b</sup>	5.77 <sup>c</sup>	10.2 <sup>x</sup>	1.0 <sup>y</sup>	1.4 <sup>y</sup>
12	5.81 <sup>a</sup>	5.86 <sup>a</sup>	5.82 <sup>a</sup>	7.5 <sup>x</sup>	1.2 <sup>y</sup>	0.6 <sup>y</sup>
24	5.69 <sup>a</sup>	5.70 <sup>a</sup>	5.74 <sup>a</sup>	7.1 <sup>x</sup>	1.0 <sup>y</sup>	0.9 <sup>y</sup>

(1) A.E.- Análisis realizado antes de la aplicación de la estimulación eléctrica.

(2) D.E.- Análisis realizado después de la aplicación de la estimulación eléctrica.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas. ( $P < 0.05$ ).



Tabla V.- Determinación del pH y la temperatura durante el estudio de la estimulación de 40 voltios de tensión eficaz.

Período post-mortem (h)	pH				Temperatura			
	MN-4	RR-4	EE-4	EEC-4	MN-4	RR-4	EE-4	EEC-4
A.E. (1)			7.03 <sup>a</sup>	7.11 <sup>a</sup>				
D.E. (2)			6.85 <sup>a</sup>	6.77 <sup>a</sup>				
1/2	6.93 <sup>a</sup>	6.84 <sup>a</sup>	6.71 <sup>b</sup>	6.58 <sup>c</sup>	37.9 <sup>x</sup>	36.9 <sup>y</sup>	38.1 <sup>x</sup>	38.4 <sup>x</sup>
2	6.57 <sup>a</sup>	6.49 <sup>b</sup>	6.38 <sup>c</sup>	6.30 <sup>d</sup>	25.4 <sup>x</sup>	21.7 <sup>y</sup>	24.3 <sup>x</sup>	23.8 <sup>x</sup>
4	6.21 <sup>a</sup>	6.35 <sup>b</sup>	6.29 <sup>b</sup>	6.11 <sup>a</sup>	19.6 <sup>x</sup>	10.3 <sup>y</sup>	11.1 <sup>y</sup>	10.6 <sup>y</sup>
6	5.92 <sup>a</sup>	6.12 <sup>b</sup>	6.01 <sup>c</sup>	5.83 <sup>a</sup>	13.9 <sup>x</sup>	2.4 <sup>y</sup>	3.2 <sup>y</sup>	2.6 <sup>y</sup>
8	5.81 <sup>a</sup>	6.01 <sup>b</sup>	5.92 <sup>a,b</sup>	5.80 <sup>a</sup>	9.5 <sup>x</sup>	1.2 <sup>y</sup>	1.8 <sup>y</sup>	0.9 <sup>y</sup>
12	5.71 <sup>a</sup>	5.94 <sup>b</sup>	5.72 <sup>a</sup>	5.81 <sup>a</sup>	6.6 <sup>x</sup>	0.3 <sup>y</sup>	1.1 <sup>y</sup>	1.4 <sup>y</sup>
24	5.74 <sup>a</sup>	5.75 <sup>a</sup>	5.79 <sup>a</sup>	5.69 <sup>a</sup>	7.1 <sup>x</sup>	0.9 <sup>y</sup>	0.7 <sup>y</sup>	0.5 <sup>y</sup>

- (1) A.E. : Análisis realizado antes de la aplicación de la estimulación eléctrica.
- (2) D.E. : Análisis realizado después de la aplicación de la estimulación eléctrica.
- (3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla VI.- Determinación del pH y la temperatura durante el estudio de la estimulación de 56 voltios de tensión eficaz.

Período post-mortem (h)	pH			Temperatura								
	MN-5	RR-5	EE-5	EECS-5	EEC10-5	EEC20-5	MN-5	RR-5	EE-5	EECS-5	EEC10-5	EEC20-5
A.E. (1)			7.04 <sup>a</sup>	6.99 <sup>a</sup>	7.11 <sup>b</sup>	7.06 <sup>a,b</sup>						
D.E. (2)			6.45 <sup>a</sup>	6.29 <sup>b</sup>	6.36 <sup>b</sup>	6.31 <sup>b</sup>						
1/2	6.81 <sup>a</sup>	6.92 <sup>b</sup>	6.25 <sup>c</sup>	6.09 <sup>d</sup>	6.11 <sup>d</sup>	6.15 <sup>d</sup>	35.9 <sup>x</sup>	38.1 <sup>y</sup>	39.1 <sup>z</sup>	38.4 <sup>y</sup>	37.9 <sup>y</sup>	37.5 <sup>y</sup>
2	6.49 <sup>a</sup>	6.54 <sup>b</sup>	6.12 <sup>c</sup>	6.00 <sup>d</sup>	5.89 <sup>e</sup>	5.94 <sup>d,e</sup>	26.7 <sup>x</sup>	22.7 <sup>y</sup>	24.5 <sup>z,p</sup>	25.1 <sup>z</sup>	22.9 <sup>s</sup>	23.2 <sup>p,s</sup>
4	6.19 <sup>a</sup>	6.29 <sup>b</sup>	5.94 <sup>c</sup>	5.86 <sup>d</sup>	5.89 <sup>d,c</sup>	5.96 <sup>c</sup>	20.1 <sup>x</sup>	9.9 <sup>y</sup>	10.2 <sup>y</sup>	10.8 <sup>y,z</sup>	11.2 <sup>z</sup>	10.7 <sup>y,z</sup>
6	5.83 <sup>a</sup>	6.07 <sup>b</sup>	5.87 <sup>a</sup>	5.85 <sup>a</sup>	5.77 <sup>b</sup>	5.83 <sup>a</sup>	14.9 <sup>x</sup>	3.1 <sup>y</sup>	3.4 <sup>y</sup>	3.0 <sup>y</sup>	4.0 <sup>y</sup>	3.8 <sup>y</sup>
8	5.86 <sup>a</sup>	6.00 <sup>b</sup>	5.83 <sup>a</sup>	5.76 <sup>a</sup>	5.81 <sup>a</sup>	5.86 <sup>a</sup>	10.1 <sup>x</sup>	2.2 <sup>y</sup>	1.7 <sup>y</sup>	1.7 <sup>y</sup>	2.0 <sup>y</sup>	2.1 <sup>y</sup>
12	5.69 <sup>a</sup>	5.78 <sup>a,b</sup>	5.71 <sup>a</sup>	5.77 <sup>a,b</sup>	5.73 <sup>a</sup>	5.78 <sup>b</sup>	8.5 <sup>x</sup>	0.9 <sup>y</sup>	1.5 <sup>y</sup>	1.3 <sup>y</sup>	1.1 <sup>y</sup>	1.3 <sup>y</sup>
24	5.74 <sup>a</sup>	5.76 <sup>a,b</sup>	5.75 <sup>a,b</sup>	5.74 <sup>a</sup>	5.68 <sup>a</sup>	5.76 <sup>a</sup>	6.3 <sup>x</sup>	1.4 <sup>y</sup>	1.2 <sup>y</sup>	1.0 <sup>y</sup>	1.3 <sup>y</sup>	1.2 <sup>y</sup>

(1) A.E.- Análisis realizado antes de la aplicación de la estimulación eléctrica.

(2) D.E.- Análisis realizado después de la aplicación de la estimulación eléctrica.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

col.,1986). Marcus (1964) indicó que la elevación de la temperatura está en función de la intensidad y duración de la corriente aplicada y de la resistencia que ofrece la canal a su paso.

Los valores de pH, inicialmente medidos en la canal, oscilan entre 7.11, determinado inmediatamente después del sacrificio en las muestras EEC-4 (Tabla V) y EEC10-5 (Tabla VI) y 6.73 en la RR-3 (Tabla IV) a los 30 minutos p.m., y son similares a los descritos por otros autores (Chrystall y Hagyard, 1976; Whiting y col.,1981; Rashid y col.,1983; Specht y Kunis, 1986). Por otra parte, los valores de pH a las 24 horas p.m. van desde 5.68, muestra EEC10-5 (Tabla VI) a 5.79 en la EE-4 (tabla V), que coinciden con los descritos por Shorthose (1978) y Whiting y col.(1981), aunque son superiores a los señalados por otros autores (Chrystall y Hagyard, 1976; Morton y Newbold, 1982), al utilizar éstos corderos de raza diferente y mayor peso.

La evolución del pH durante el período estudiado está en función del tratamiento realizado. Entre los lotes no estimulados la diferencia en el tratamiento se encuentra en la distinta velocidad de refrigeración, observándose diferencias significativas entre ambos tipos de muestra desde las 3 horas y hasta las 12 horas p.m. Las canales sometidas a refrigeración lenta alcanzan su pH final con mayor prontitud (entre 6-8 horas p.m.) que las refrigeradas rápidamente no estimuladas, que llegan a él entre las 12 y las 24 horas p.m. Entre los lotes refrigerados rápidamente, la distinta velocidad de descenso del pH va a ser debida al tipo de estimulación ensayado, observándose valores en el pH significativamente más bajos durante las primeras 12 horas de conservación en las canales estimuladas (Tablas III, IV, V y VI).

Algunos investigadores (Bendall y col.,1976; Chrystall y Devine, 1978) han distinguido dos fases distintas en la glucólisis p.m. de los músculos procedentes de canales estimuladas. La primera tiene lugar en el período de estimulación, durante el cual se observa una disminución muy pronunciada de pH ( $\Delta$  pH), y la segunda

acontece en el período de post-estimulación, durante el cual esta velocidad de descenso es menos acusada ( $dpH/dt$ ). Los valores de  $\Delta pH$  y  $dpH/dt$  se han empleado a menudo como criterio del grado de efectividad de la estimulación eléctrica. Para los diferentes tipos de estimulaciones ensayadas, estos valores se reflejan en la tabla VII. Los  $\Delta pH$  obtenidos con las diferentes estimulaciones realizadas oscilan entre 0.18 y 0.75, estando condicionado tanto por el voltaje empleado (cuanto más elevado es, produce  $\Delta pH$  mayores), como por el cambio de polaridad (el empleo de esta para una misma tensión provoca  $\Delta pH$  más acusados). Algunos autores han indicado que cuanto mayor es este descenso, mayor es la eficacia de la estimulación en acelerar la glucólisis p.m.  $\Delta pH$  entre 0.4 y 0.8 han sido descritos en la bibliografía al emplear corrientes de bajo voltaje (Shaw y Walker, 1977; Taylor y Marshall, 1980; Eikenlenboom y col., 1981; 1985; West, 1982), mientras que con altos voltajes este valor puede llegar a ser de 1.0 (Bendall y col., 1976; Chrystall y Devine, 1978).

Según se observa en la tabla VII, el  $dpH/dt$  es inferior en canales no estimuladas que en las estimuladas, lo que indica que la glucólisis p.m. transcurre a menor velocidad. En las canales estimuladas este valor depende del tipo de estimulación realizado, y varía desde 0.12 con el empleo de 24 voltios de tensión eficaz hasta 0.28 con 56 voltios y cambio de polaridad cada 10 segundos, observándose, por lo tanto, que la velocidad de la glucólisis p.m. tiene lugar tanto más rápidamente cuanto mayor es el voltaje aplicado.

Algunos autores han indicado que el efecto de la estimulación eléctrica, como medio para evitar el acortamiento muscular por frío, puede ser determinado por el tiempo necesario en alcanzar  $pH=6.0$ , ya que a  $pH$  más bajos no se darían las condiciones necesarias para la aparición de este fenómeno (Bendall, 1975). Cuanto menor sea dicho período, mayor es la eficacia de la estimulación. Mientras que las muestras refrigeradas rápidamente no estimuladas precisan entre 8 y 9 horas para alcanzar estos valores (Ta-

Tabla VII.- Tiempo, en horas, necesario para alcanzar pH=6.0, descenso del pH durante la estimulación ( $\Delta$ pH) y descenso del pH durante el período de post-estimulación (dpH/dt), en función de los diferentes tratamientos realizados.

Muestras	Tiempo (horas) pH = 6.0	$\Delta$ pH	dpH/dt
EE-24 v	6	0.22	0.12
EE-40 v s.c. (1)	6	0.18	0.13
EE-40 v c.c.10 (2)	4-6	0.34	0.16
EE-56 v s.c.	2-4	0.59	0.19
EE-56 v c.c.5"	2	0.70	0.27
EE-56 v c.c.10"	1-2	0.75	0.28
EE-56 v c.c.20"	1-2	0.75	0.24
EE-20-56 v	1½-3	0.49	0.14
N.E. (3)	6-8	0.00	0.09

(1) s.c.- Corriente aplicada sin cambio de polaridad.

(2) c.c.- Corriente aplicada con cambio de polaridad.

(3) Canales refrigeradas rápidamente no estimuladas. Estos valores son media de cuatro tratamientos.

bla VII), en las canales estimuladas este período se ve condiciona do por el tipo de estimulación ensayado (Tabla VII) y varía entre 2 horas, para tensiones de 56 voltios con cambio de polaridad, y 6 horas para estimulaciones de 24 voltios. Chrystall y Devine (1982) empleando altos voltajes, reducían dicho período a menos de 1 hora, indicando que cuanto mayor fuera el intervalo entre el sacrificio del animal y la aplicación de la estimulación, su efecto disminuye y el momento de alcanzar pH 6.0 es posterior. Fenómenos similares fueron descritos por Rashid y col.(1983). Todo esto explicaría por qué Morton y Newbold (1982), empleando bajos voltajes (45 voltios) (similares a los empleados en este trabajo) a los 15 minutos p.m., necesitaron 5 horas para alcanzar pH iguales o inferiores a 6.0.

Analizando la relación entre el pH y la temperatura de las canales, se observa que con el empleo de la refrigeración lenta no se llegan a alcanzar las condiciones necesarias para que tenga lugar el acortamiento muscular por frío (Fig.2), descrito por Bendall (1973a). Sin embargo, estas condiciones sí se consiguen para las muestras refrigeradas rápidamente, debido a la mayor velocidad de refrigeración. El empleo de los diferentes tipos de estimulación provoca descensos de pH variables (Tabla VII), que en ocasiones van a lograr evitar la inadecuada relación entre los procesos bioquímicos del músculo y la temperatura a que se le somete, como en el caso de estimulaciones de tensión creciente de 20 a 56 voltios, o con la de 56 voltios (Tablas IV y VI), con  $\Delta$ pH mayores a 0.45 (Tabla VII). Con el empleo de 24 voltios y 40 voltios de tensión eficaz se llegan a  $\Delta$ pH de 0.22 y 0.34 respectivamente, que resultan insuficientes para que no se alcancen las condiciones de aparición del acortamiento muscular por frío.

#### IV.1.2.- Análisis instrumental de textura.

La determinación de la resistencia al corte medida en la célula de Kramer y Warner-Bratzler, se refleja en las tablas VIII, IX, X, XI y XII.

Tabla VIII.- Determinación de la resistencia al corte de la carne por medio de la célula de Kramer (K) y la Warner-Bratzler (W.B.) durante la conservación al estado refrigerado, del estudio de la estimulación de 21.6 voltios de tensión eficaz.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)				
		0 <sup>(1)</sup>	1	2	6	10
K (kg/g)	MN-1	23.9 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	13.8 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	12.2 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	9.9 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	9.0 <sub>1</sub> <sup>b</sup>
	RR-1	23.9 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	25.6 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	25.5 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	14.0 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	14.7 <sub>2</sub> <sup>b</sup>
	EE-1	21.3 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	22.6 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	23.4 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	16.6 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	15.4 <sub>2</sub> <sup>b</sup>
WB (kg/cm <sup>2</sup> )	MN-1	9.8 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	5.5 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	4.5 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	4.1 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	3.4 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
	RR-1	9.8 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	5.3 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	5.9 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	5.4 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	3.6 <sub>1</sub> <sup>b</sup>
	EE-1	5.9 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	5.5 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	4.7 <sub>1,2</sub> <sup>a,b</sup>	5.3 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	3.9 <sub>1</sub> <sup>b</sup>

(1) Control inicial realizado a las 3 horas post-mortem.

(2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla IX.- Determinación de la resistencia al corte de la carne medida en la célula de Kramer (K) y la de Warner-Bratzler (W.B.) durante la conservación al estado refrigerado, del estudio de la estimulación de 24 voltios de tensión eficaz.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)					
		0 <sup>(1)</sup>	1	2	4	7	11
K (K/g)	MM-2	15.27 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	23.26 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	19.57 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	12.31 <sub>1</sub> <sup>a,d</sup>	10.41 <sub>1</sub> <sup>d</sup>	8.17 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
	RR-2	19.98 <sub>2</sub> <sup>a,c</sup>	26.38 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	22.10 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	18.24 <sub>2</sub> <sup>c</sup>	17.65 <sub>2</sub> <sup>c,d</sup>	15.16 <sub>2</sub> <sup>d</sup>
	EE-2	14.41 <sub>1</sub> <sup>a,c</sup>	20.31 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	16.64 <sub>3</sub> <sup>a</sup>	16.48 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	15.32 <sub>3</sub> <sup>a</sup>	12.69 <sub>2</sub> <sup>c</sup>
WB (K/cm <sup>2</sup> )	MM-2	5.63 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	8.55 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	7.98 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	6.82 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	5.87 <sub>1</sub> <sup>a,c</sup>	2.59 <sub>1</sub> <sup>d</sup>
	RR-2	6.11 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	7.34 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	6.31 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	5.15 <sub>2</sub> <sup>c</sup>	5.16 <sub>1</sub> <sup>a,c</sup>	3.61 <sub>2</sub> <sup>d</sup>
	EE-2	7.00 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	8.60 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	6.91 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	6.24 <sub>1,2</sub> <sup>a,c</sup>	5.02 <sub>1</sub> <sup>c,d</sup>	4.82 <sub>3</sub> <sup>d</sup>

(1) Control inicial realizado a las tres horas post-mortem.

(2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas  
(P < 0.05).

(3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas  
(P < 0.05).



Tabla X.- Determinación de la resistencia al corte de la carne medida en la célula de Kramer (K) y la de Warner-Bratzler (W.B.), durante la conservación al estado refrigerado, en el estudio de la estimulación con tensión eficaz creciente.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)					
		0 <sup>(1)</sup>	1	2	4	7	12
K (Kg/g)	MT-3	24.91 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	17.61 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	15.49 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	14.07 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	8.92 <sub>1</sub> <sup>d</sup>	7.43 <sub>1</sub> <sup>d</sup>
	RR-3	20.12 <sub>2</sub> <sup>a,c</sup>	28.10 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	22.36 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	22.47 <sub>2</sub> <sup>a,c</sup>	17.92 <sub>2</sub> <sup>a,c</sup>	15.24 <sub>2</sub> <sup>d</sup>
	EE-3	19.72 <sub>2</sub> <sup>a,b</sup>	21.47 <sub>3</sub> <sup>a</sup>	23.07 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	16.38 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	14.56 <sub>2</sub> <sup>c</sup>	10.96 <sub>3</sub> <sup>d</sup>
WB (Kg/cm <sup>2</sup> )	MT-3	8.35 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	6.40 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	6.75 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	6.825 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	4.925 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	4.40 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
	RR-3	7.25 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	5.75 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	5.95 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	6.35 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	5.10 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	3.15 <sub>2</sub> <sup>c</sup>
	EE-3	5.025 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	6.10 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	6.65 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	4.48 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	5.55 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	4.05 <sub>1,2</sub> <sup>c</sup>

(1) Control inicial realizado a las tres horas post-mortem.

(2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas  
( $P < 0.05$ ).

(3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas  
( $P < 0.05$ ).

Tabla XI.- Determinación de la resistencia al corte de la carne medida en la célula de Kramer (K) y la de Warner-Bratzler (W.B.) durante la conservación al estado refrigerado, en el estudio de la estimulación de 40 voltios de tensión eficaz.

Análisis	Muestras	Período post-mortem (días)					
		0(1)	1	2	5	8	12
K (Kg/g)	MM-4	21.70 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	24.93 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	18.36 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	14.32 <sub>1</sub> <sup>d</sup>	10.91 <sub>1</sub> <sup>e</sup>	7.19 <sub>1</sub> <sup>f</sup>
	RR-4	22.29 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	27.52 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	22.46 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	22.72 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	17.41 <sub>2</sub> <sup>c</sup>	14.37 <sub>2</sub> <sup>d</sup>
	EE-4	25.31 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	25.10 <sub>1,2</sub> <sup>a</sup>	20.62 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	18.32 <sub>3</sub> <sup>b</sup>	14.23 <sub>3</sub> <sup>c</sup>	13.41 <sub>2,3</sub> <sup>c</sup>
	EEC-4	26.04 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	23.42 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	19.01 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	19.57 <sub>3</sub> <sup>c</sup>	15.03 <sub>2</sub> <sup>d</sup>	12.14 <sub>3</sub> <sup>e</sup>
WB (Kg/cm <sup>2</sup> )	MM-4	7.3 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	5.9 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	6.3 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	4.9 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	5.2 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	3.9 <sub>1</sub> <sup>d</sup>
	RR-4	8.2 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	6.3 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	5.6 <sub>2</sub> <sup>c</sup>	5.4 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	4.7 <sub>1,2</sub> <sup>d</sup>	4.6 <sub>2</sub> <sup>d</sup>
	EE-4	6.9 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	7.3 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	6.0 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	6.2 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	4.3 <sub>2</sub> <sup>c</sup>	4.2 <sub>1,2</sub> <sup>c</sup>
	EEC-4	7.0 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	6.2 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	6.6 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	4.7 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	5.1 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	4.8 <sub>2</sub> <sup>b</sup>

(1) Control inicial realizado a las tres horas post-mortem.

(2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas  
(P < 0.05).

(3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas  
(P < 0.05).

Tabla XII.- Determinación de la resistencia al corte de la carne medida en la célula de Kramer (K) y la Warner-Bratzler (W.B.) durante la conservación al estado refrigerado, en el estudio de la estimulación a 56 voltios de tensión eficaz.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)					
		0 <sup>(1)</sup>	1	2	5	8	12
K (Kg/2)	MT-5	18.40 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	23.49 <sup>b</sup> <sub>1,2</sub>	16.47 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	12.36 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	9.00 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	7.70 <sup>d</sup> <sub>1</sub>
	RR-5	20.60 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	23.01 <sup>b</sup> <sub>1,2</sub>	21.74 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	19.19 <sup>a,c</sup> <sub>2</sub>	17.92 <sup>c,d</sup> <sub>2</sub>	14.71 <sup>d</sup> <sub>2</sub>
	EE-5	24.98 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	20.49 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	18.51 <sup>b</sup> <sub>2,3</sub>	15.78 <sup>b,c</sup> <sub>3</sub>	12.64 <sup>c,d</sup> <sub>3</sub>	10.66 <sup>d</sup> <sub>3</sub>
	EEC5-5	22.74 <sup>a,b</sup> <sub>1,2</sub>	23.14 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	19.24 <sup>b</sup> <sub>2,3</sub>	14.31 <sup>c</sup> <sub>3</sub>	11.30 <sup>d</sup> <sub>3</sub>	9.17 <sup>e</sup> <sub>3,4</sub>
	EEC10-5	20.50 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	22.50 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	18.72 <sup>a</sup> <sub>2,3</sub>	13.08 <sup>b</sup> <sub>1,3</sub>	10.82 <sup>c</sup> <sub>3</sub>	8.55 <sup>d</sup> <sub>1,4</sub>
	EEC20-5	21.32 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	23.50 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	17.62 <sup>b</sup> <sub>1,3</sub>	14.98 <sup>c</sup> <sub>3</sub>	11.42 <sup>d</sup> <sub>3</sub>	8.92 <sup>a</sup> <sub>4</sub>
WB (Kg/cm <sup>2</sup> )	MT-5	7.3 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	7.6 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.1 <sup>a,b</sup> <sub>1,2</sub>	6.1 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	5.3 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	4.4 <sup>d</sup> <sub>1</sub>
	RR-5	7.5 <sup>a</sup> <sub>1,3</sub>	7.5 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.7 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.2 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	6.4 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	6.1 <sup>b</sup> <sub>2</sub>
	EE-5	6.9 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	7.4 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.5 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	6.0 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	5.5 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	4.5 <sup>c</sup> <sub>1</sub>
	EEC5-5	8.0 <sup>a</sup> <sub>3</sub>	7.4 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	6.7 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	6.2 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	5.4 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	4.3 <sup>e</sup> <sub>1</sub>
	EEC10-5	7.3 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	7.7 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.0 <sup>a,b</sup> <sub>1,2</sub>	6.4 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	5.7 <sup>b,c</sup> <sub>1,2</sub>	5.2 <sup>c</sup> <sub>2</sub>
	EEC20-5	7.4 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	7.9 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.2 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	6.3 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	5.5 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	5.0 <sup>c</sup> <sub>1,2</sub>

(1) Control inicial realizado a las tres horas post-mortem.

(2) Letras diferentes en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0.05).

(3) Números diferentes en la misma columna indican diferencias significativas (P < 0.05).

Durante el período de conservación se observa una disminución de la resistencia al corte, medida en la célula de Kramer, en todas las muestras. Comportamientos similares han sido descritos por Moral y col. (1984) y Jiménez-Colmenero y col. (1985). Si bien su grado no va a ser igual para todas las muestras y va a estar en función del tratamiento empleado.

En algunos casos se advierte un aumento de este valor a las 24 horas p.m., atribuible a la instauración del rigor mortis, que resulta menos apreciable en las muestras estimuladas, debido a que, como se ha señalado anteriormente, la estimulación eléctrica acelera la glucólisis post-mortem, con el consiguiente adelantamiento de su aparición.

La mayor resistencia al corte observada en las canales refrigeradas rápidamente y no estimuladas, a partir del segundo día de conservación, puede ser debida a la aparición del acortamiento muscular por frío. Dicho fenómeno ha sido estudiado en profundidad desde su descubrimiento por Locker y Hagyard (1963). Sin embargo, hay ciertas discrepancias sobre la influencia de la conservación al estado refrigerado en la dureza de este tipo de carne. Mientras que algunos autores han indicado que el acortamiento muscular por frío es irreversible y que la conservación no tiene efecto sobre la dureza de la carne (Herring y col., 1967; Locker y col., 1975; Davey y col., 1976), otros han observado la existencia de cierto ablandamiento en la carne durante la conservación, aunque en menor medida que la encontrada en la carne procedente de canales no afectadas por este fenómeno (Goll y col., 1964; Newbold y Harris, 1972; Bouton y col., 1973; Moral y col., 1984; Locker y Wild, 1984). Esto explicaría por qué a pesar del acortamiento muscular por frío, se alcanzan distintos grados de ablandamiento (Tabla XIII). En la carne procedente de canales refrigeradas rápidamente no estimuladas, éste llega a ser, durante el proceso de conservación, de un 43.16%, mientras que en las refrigeradas lentamente, la disminución de dureza es mayor y alcanza el 67.16%. La dureza de la carne procedente de canales estimuladas va a depender del

Tabla XIII.- Variación del grado de ablandamiento que experimenta la carne a lo largo de la conservación al estado refrigerado<sup>(1)</sup>.

Muestras	Grado de ablandamiento
MN <sup>(2)</sup>	67.16
RR <sup>(2)</sup>	43.16
EE-21.6 v	34.19
EE-24 v	37.52
EE-40 v s.c. <sup>(3)</sup>	47.01
EE-40 v c.c. <sup>(4)</sup>	53.38
EE-20-56 v	52.49
EE-56 v s.c.	57.32
EE-56 v c.c.5"	60.37
EE-56 v c.c.10"	62.00
EE-56 v c.c.20"	61.84

(1) El grado de ablandamiento (medido en la célula de Kramer) se calcula de la manera siguiente:

Grado de ablandamiento=

$$= 100 - \frac{\text{dureza al final del período conservación}}{\text{dureza máxima observada}} \times 100$$

(2) Estos valores son media de los cinco estudios realizados.

(3) s.c.- Corriente aplicada sin cambio de polaridad.

(4) c.c.- Corriente aplicada con cambio de polaridad.

efecto de la estimulación. El empleo de tensiones de 21.6 voltios, 24 voltios y 40 voltios sin cambio de polaridad no va a impedir las condiciones del acortamiento muscular por frío (Tablas III y V), lo que se manifiesta por ablandamientos menores al 50% durante el período de conservación (Tabla XIII), mientras que con el empleo de tensiones de 40 voltios con cambio de polaridad, tensiones crecientes de 20 voltios a 56 voltios, y de 56 voltios se ha logrado evitar el acortamiento muscular por frío (Tablas IV, V y VI) y se alcanzan ablandamientos superiores al 50%, acercándose en algunos casos al 67.16% conseguido en la carne procedente de canales refrigeradas lentamente (Tabla XIII).

La variación de la resistencia al corte de la carne procedente de canales estimuladas a lo largo de la conservación, va a estar condicionada por las características de la estimulación realizada (Tabla VIII, IX, X y XI) y viene determinada por la relación entre los procesos bioquímicos del músculo y la temperatura. Las muestras que presentan el acortamiento muscular por frío dan lugar a una carne más dura, si bien se ha observado en éstas diferentes niveles de dureza atribuibles al distinto grado de intensidad del acortamiento muscular por frío (Savell y col., 1981; Schroeder y col., 1982) en función de las condiciones de estimulación ensayada.

Existe una relación inversa entre el descenso de pH durante la estimulación ( $\Delta$  pH) y el aumento porcentual de dureza ( $\Delta$  dureza) en las canales refrigeradas rápidamente (estimuladas o no) respecto de las refrigeradas lentamente al final del período de conservación (Tabla XIV). Entre el  $\Delta$  pH y el  $\Delta$  dureza se ha establecido una relación lineal ( $\Delta$  dureza =  $192.8 - 106.4 \Delta$  pH;  $r=0.87$ ) que es significativa al noventa y nueve por ciento, lo que permite, en las condiciones ensayadas, conocer inmediatamente la eficacia de la estimulación sobre la dureza de la carne al observar el  $\Delta$  pH producido.  $\Delta$  pH inferiores a 0.4 han dado lugar a endurecimientos mayores al 150%, hecho que indica la existencia del acortamiento muscular por frío. Todo ello permitiría adecuar el

Tabla XIV.- Relación entre el descenso de pH durante la estimulación ( $\Delta$  pH) y el aumento porcentual de dureza ( $\Delta$  dureza)<sup>(1)</sup> que experimenta la carne durante la conservación al estado refrigerado, en función del tratamiento ensayado.

Muestras	$\Delta$ pH	$\Delta$ dureza
MN <sup>(2)</sup>	0.00	100.00
RR <sup>(2)</sup>	0.00	191.04
EE-24 v	0.22	155.32
EE-40 v s.c. <sup>(3)</sup>	0.18	186.51
EE-40 v c.c. <sup>(4)</sup>	0.34	168.84
EE-20-56 v	0.49	147.51
EE-56 v s.c.	0.59	138.44
EE-56 v c.c.5"	0.70	119.09
EE-56 v c.c.10"	0.75	111.04
EE-56 v c.c.20"	0.75	115.84

(1) El aumento de dureza ( $\Delta$  dureza), medida en la célula de Kramer, se calcula de la manera siguiente:

$$\Delta \text{ dureza} = \frac{\text{dureza al final del período de conservación de las muestras RR y EE} - \text{dureza al final del período de conservación de las muestras MN}}{\text{dureza al final del período de conservación de las muestras MN}} \times 100$$

(2) Estos valores son media de los cinco estudios realizados.

(3) s.c.- Corriente aplicada sin cambio de polaridad.

(4) c.c.- Corriente aplicada con cambio de polaridad.

tratamiento frigorífico a las condiciones específicas de la canal, a fin de obtener los niveles de dureza adecuados.

El comportamiento de la resistencia al corte determinada en la Warner-Bratzler indica que, al igual que en la resistencia al corte medida en la célula de Kramer, existe un ablandamiento en todas las muestras durante la conservación al estado refrigerado. Comportamientos similares han sido descritos por Eikelenboom y col. (1981: 1985) y Rashid y col. (1983).

Como puede verse en la tabla IX, existe un aumento de la resistencia al corte a las 24 horas p.m. en las muestras MN-2, RR-2 y EE-2, que se atribuye a la instauración del rigor mortis. Este fenómeno también ha sido observado en mayor medida al analizar los parámetros de resistencia al corte determinados en la célula de Kramer, principalmente en la carne procedente de canales no estimuladas. Analizando los valores medidos por la Warner-Bratzler al final del período de conservación, se observa un comportamiento anómalo en ciertos casos. Mientras que parece lógico pensar que la carne refrigerada rápidamente no estimulada, que experimenta el fenómeno de acortamiento muscular por frío, exhiba mayores valores de resistencia al corte que las refrigeradas lentamente, se ha observado tanto la existencia del hecho contrario (Tabla X), como la inexistencia de diferencias significativas entre dichas muestras (Tabla VIII).

La efectividad de la estimulación eléctrica ensayada a 40 voltios con cambio de polaridad, tensión creciente de 20 voltios a 56 voltios y 56 voltios con cambio de polaridad cada 10 y 20 segundos, que ha sido establecida tanto al analizar su efecto sobre la velocidad de la glucólisis post-mortem y evitar las condiciones de aparición del acortamiento muscular por frío (Tablas IV, V y VI) como a través de la resistencia al corte en la célula de Kramer (Tablas X, XI y XII), no manifiesta un comportamiento análogo cuando se evalúa a través de la Warner-Bratzler.



La variación de la resistencia al corte determinada en la Warner-Bratzler, a lo largo de la conservación, en función de los tratamientos aplicados, no permite, en las condiciones ensayadas, establecer el mismo tipo de relaciones que las estudiadas en el caso de la resistencia al corte medida en la célula de Kramer.

#### IV.1.3.- Análisis sensorial.

La determinación de la dureza y la aceptabilidad general mediante el jurado de degustación se reflejan en las tablas XV, XVI, XVII, XVIII y XIX.

Se observa, en general, un ablandamiento progresivo de la carne a lo largo del período de conservación, coincidiendo con el descenso en la resistencia al corte medida tanto en la célula de Kramer como en la Warner-Bratzler. La dureza, evaluada por el equipo de catadores, se ve condicionada por las diferentes velocidades de refrigeración ensayadas, siendo las muestras refrigeradas rápidamente más duras que las refrigeradas lentamente. Esta mayor dureza se explica por la existencia del acortamiento muscular por frío, puesto de manifiesto por la relación entre el pH y la temperatura (Tablas III, IV, V y VI) y por la resistencia al corte medida en la célula de Kramer (Tablas VIII, IX, X, XI y XII).

A través del análisis de dureza se observa que el efecto de la estimulación resulta paralelo al descrito al estudiar la relación pH-temperatura y la resistencia al corte en la célula de Kramer. Las estimulaciones eléctricas de 40 voltios con cambio de polaridad, tensión creciente de 20 voltios a 56 voltios y 56 voltios con cambio de polaridad cada 10 y 20 segundos, que eran las más eficaces según los criterios señalados anteriormente, dan lugar a carnes más blandas que las procedentes de canales refrigeradas rápidamente y que, en algunos casos, se igualan e incluso son inferiores que las refrigeradas lentamente (Tabla XIX). Sin embargo, la estimulación eléctrica con 21.6 voltios y 24 voltios no tiene efecto alguno sobre este parámetro, hecho que se pone de mani-

Tabla XV.- Dureza y aceptabilidad general de la carne, determinada por el jurado de degustación, durante el estudio de la estimulación a 21.6 voltios de tensión eficaz.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)			
		1	2	6	10
Dureza (1)	MN-1	3.8	3.6	4.0	3.6
	RR-1	6.0	5.2	5.2	5.0
	EE-1	5.0	5.0	4.2	5.4
Aceptabi- lidad ge- neral (2)	MN-1	5.1	6.0	5.8	5.2
	RR-1	4.0	5.7	5.0	5.0
	EE-1	4.6	5.0	5.4	4.4

(1) Escala utilizada; 1: muy blando; 7: muy duro.

(2) Escala utilizada; 1: muy mala; 7: muy buena.

Tabla XVI.- Dureza y aceptabilidad general de la carne, determinado por el jurado de degustación, durante el estudio de la estimulación a 24 voltios de tensión eficaz.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)					
		0 <sup>(1)</sup>	1	2	4	7	11
Dureza (2)	MN-2	6.4	6.0	5.0	4.2	4.0	3.6
	RR-2	6.3	6.7	6.5	5.6	5.4	4.6
	EE-2	5.6	5.6	5.1	4.6	4.75	4.2
Aceptabi- lidad ge- neral (3)	MN-2	5.4	5.6	6.2	6.4	6.1	6.4
	RR-2	5.0	5.0	4.8	5.2	4.7	4.8
	EE-2	6.0	6.2	6.1	6.0	5.6	5.3

(1) Control realizado a las 3 horas post-mortem.

(2) Escala utilizada; 1: muy blando; 7: muy duro.

(3) Escala utilizada; 1: muy mala; 7: muy buena.

Tabla XVII.- Dureza y aceptabilidad de la carne, determinada por el jurado de degustación, durante el estudio de la estimulación de tensión eficaz creciente.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)					
		0 (1)	1	2	4	7	12
Dureza (2)	MN-3	6.0	4.8	4.4	4.2	4.0	4.4
	RR-3	5.5	6.2	6.4	6.8	5.3	5.2
	ES-3	4.5	5.6	6.0	4.0	4.6	4.6
Aceptabi- lidad ge- neral (3)	MN-3	4.4	6.0	6.0	5.6	6.2	5.6
	RR-3	5.0	4.6	4.6	4.2	5.4	4.1
	ES-3	5.4	5.4	5.2	5.4	6.0	5.0

(1) Control inicial realizado a las tres horas post-mortem.

(2) Escala utilizada; 1: muy blanda; 7: muy dura.

(3) Escala utilizada; 1: muy mala; 7: muy buena.

Tabla XVIII.- Dureza y aceptabilidad general de la carne, determinada por el jurado de degustación, durante el estudio de la estimulación a 40 voltios de tensión eficaz.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)					
		0 (1)	1	2	5	8	12
Dureza (2)	MN-4	5.2	5.4	4.8	4.2	4.6	3.8
	RR-4	5.2	6.0	5.6	6.2	6.0	6.0
	EE-4	5.4	5.2	5.2	5.6	5.4	4.6
	EEC-4	5.6	5.4	5.0	5.4	5.4	4.6
Aceptabi- lidad ge- neral (3)	MN-4	6.0	5.2	6.2	6.0	5.8	5.8
	RR-4	5.8	4.6	5.0	4.2	4.6	4.4
	EE-4	5.2	6.0	5.8	5.4	4.9	4.8
	EEC-4	4.0	5.2	5.8	5.1	5.2	5.0

(1) Control inicial realizado a las tres horas post-mortem.

(2) Escala utilizada; 1: muy blanda; 7: muy dura.

(3) Escala utilizada; 1: muy mala; 7: muy dura.

Tabla XIX.- Dureza y aceptabilidad general de la carne, determinada por el jurado de degustación, durante la estimulación a 56 voltios de tensión eficaz.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)					
		0 <sup>(1)</sup>	1	2	5	8	12
Dureza (2)	MN-5	4.6	6.0	5.2	4.6	3.4	4.1
	RR-5	5.0	6.2	6.2	6.0	5.6	5.6
	EE-5	5.8	5.8	5.5	5.6	4.4	5.0
	EEC5-5	5.4	6.2	5.6	5.2	4.4	4.6
	EEC10-5	5.0	6.0	5.6	5.2	4.0	3.8
	EEC20-5	5.0	6.0	5.4	5.4	4.4	3.4
Aceptabi- lidad ge- neral (3)	MN-5	6.0	4.8	5.4	6.0	6.2	6.0
	RR-5	5.1	4.6	4.0	4.2	4.4	4.0
	EE-5	4.6	6.2	5.2	5.2	5.0	5.0
	EEC5-5	5.3	5.0	5.0	5.0	5.6	5.2
	EEC10-5	5.0	5.2	5.2	5.6	5.4	5.6
	EEC20-5	5.2	5.0	5.0	5.2	5.0	5.3

(1) Control inicial realizado a las tres horas post-mortem.

(2) Escala utilizada; 1: muy blanda; 7: muy dura.

(3) Escala utilizada; 1: muy mala; 7: muy buena.

fiesto cuando se compara con las muestras refrigeradas rápidamente no estimuladas.

El equipo de catadores encontró que, a partir del segundo día de conservación y hasta el final de la misma, las muestras refrigeradas lentamente manifiestan mayores índices de aceptabilidad que las refrigeradas rápidamente, tanto si han sido estimuladas como no. Las muestras estimuladas, en general, manifiestan mayor grado de aceptabilidad que las refrigeradas rápidamente no estimuladas, existiendo una relación entre esta mayor aceptación por parte del jurado de degustación y la efectividad de la estimulación eléctrica. Así, para las muestras procedentes de canales estimuladas con tensiones de 40 voltios con cambio de polaridad, tensiones crecientes de 20 voltios a 56 voltios y con 56 voltios con y sin cambio de polaridad, en las que se ha determinado la efectividad de la estimulación por su mayor  $\Delta$  pH (Tabla XIV), la menor resistencia al corte en la célula de Kramer (Tablas X, XI y XII) y menor dureza en el análisis sensorial (Tablas XVII, XVIII y XIX) se encuentran niveles de aceptabilidad general más elevados (Tablas XVII, XVIII y XIX). Existe una relación inversa entre la dureza de la carne y su aceptabilidad, que puede explicarse, en gran medida, porque la dureza es el factor principal que ha condicionado el grado de aceptabilidad de la carne por el jurado de degustación.

#### IV.1.4.- Análisis de varianza entre las distintas determinaciones de textura de la carne.

El grado de efectividad de los tratamientos aplicados se ha determinado además a través del análisis de varianza entre las distintas determinaciones de textura realizadas (análisis sensorial y medida instrumental de la resistencia al corte en la célula de Kramer y la Warner-Bratzler) que se reflejan en las tablas XX, XXI, XXII, XXIII y XXIV.

Se han observado diferencias significativas ( $P < 0.01$ )

Tabla XX.- Análisis de varianza de los parámetros de dureza, determinados mediante la célula de Kramer (K), Warner-Bratzler (W.B.) y el jurado de degustación (T.P.), durante el estudio de la estimulación a 21.6 voltios de tensión eficaz.

Muestras	K	WB	TP
MN-1 - RR-1	*	NS	*
MN-1 - EE-1	*	NS	*
RR-1 - EE-1	NS	NS	NS

NS, No significativa.

\*, Significativa ( $P < 0.01$ ).

Tabla XXI.- Análisis de varianza de los parámetros de dureza determinados mediante la célula de Kramer (K), Warner-Bratzler (W.B.) y el jurado de degustación (T.P.), durante el estudio de la estimulación a 24 voltios de tensión eficaz.

Muestras	K	WB	TP
MN-2 - RR-2	*	NS	*
MN-2 - EE-2	*	NS	*
EE-2 - RR-2	NS	NS	NS

NS, No significativa.

\*, Significativa ( $P < 0.01$ ).



Tabla XXII.- Análisis de varianza de los parámetros de dureza determinados por la célula de Kramer (K), Warner-Bratzler (W.B.) y jurado de degustación (T.P.), durante el estudio de la estimulación eléctrica de tensión eficaz creciente.

Muestras	K	WB	TP
MN-3 - RR-3	*	NS	*
MN-3 - ES-3	*	NS	NS
ES-3 - RR-3	*	NS	*

\*,Significativa ( $P < 0.01$ ).

NS,No significativa.

Tabla XXIII.- Análisis de varianza de los parámetros de dureza determinados por la célula de Kramer (K), Warner-Bratzler (W.B.) y jurado de degustación (T.P.), durante el estudio de la estimulación eléctrica de 40 voltios de tensión eficaz.

Muestras	K	WB	TP
MN-4 - RR-4	*	NS	*
MN-4 - EE-4	*	NS	*
MN-4 - EEC-4	*	NS	*
RR-4 - EE-4	NS	NS	*
RR-4 - EEC-4	NS	NS	*
EE-4 - EEC-4	NS	NS	NS

\*, Significativa ( $P < 0.01$ ).

NS, No significativa.

Tabla XXIV.- Análisis de varianza de los parámetros de dureza determinados por la célula de Kramer (K), Warner-Bratzler (W.B.) y jurado de degustación (T.P.), durante el estudio de la estimulación de 56 voltios de tensión eficaz.

Muestras	K	WB	TP
MN-5 - RR-5	*	*	*
MN-5 - EE-5	*	NS	*
MN-5 - EEC5-5	*	NS	*
MN-5 - EEC10-5	NS	NS	NS
MN-5 - EEC20-5	*	NS	NS
RR-5 - EE-5	*	NS	*
RR-5 - EEC5-5	*	NS	*
RR-5 - EEC10-5	*	*	*
RR-5 - EEC20-5	*	NS	*
EE-5 - EEC5-5	NS	NS	NS
EE-5 - EEC10-5	NS	NS	NS
EE-5 - EEC20-5	NS	NS	NS
EEC5-5 - EEC10-5	NS	NS	NS
EEC5-5 - EEC20-5	NS	NS	NS
EEC10-5 - EEC20-5	NS	NS	NS

\*, Significativa ( $P < 0.05$ ).

NS, No significativa.



en la determinación de la resistencia al corte en la célula de Kramer y de la dureza por el jurado de degustación entre las muestras refrigeradas lentamente y las refrigeradas rápidamente no estimuladas en todos los estudios realizados. Este comportamiento indica la influencia del tratamiento frigorífico efectuado sobre la dureza de la carne, y se explica por la aparición del acortamiento muscular por frío en las muestras refrigeradas rápidamente no estimuladas.

El efecto de la estimulación sobre la dureza de la carne va a depender del tipo de tensión aplicada. Así, no se han observado diferencias significativas entre las muestras refrigeradas rápidamente (RR) y las estimuladas con tensiones de 21.6 voltios y 24 voltios para las determinaciones de resistencia al corte (célula de Kramer y Warner-Bratzler) y dureza (análisis sensorial) (Tablas XX y XXI), que indican la poca efectividad de la estimulación efectuada sobre estos parámetros, puesta de manifiesto anteriormente al producir  $\Delta$  pH inferiores a 0.25 que provocan aumentos de dureza superiores al 150% (Tabla XIV).

Con el empleo de tensiones crecientes de 20 voltios a 56 voltios y de 56 voltios con y sin cambio de polaridad se observan diferencias significativas ( $P < 0.01$ ) entre estas muestras y las refrigeradas rápidamente no estimuladas en la dureza determinada por el equipo de catadores y la resistencia al corte medida en la célula de Kramer (Tabla XXII y XXIV). Este comportamiento coincide con el criterio establecido anteriormente de que  $\Delta$  pH mayores a 0.4 dan lugar a endurecimientos menores del 150%, hecho que indica la inexistencia del acortamiento muscular por frío en estas muestras (Tabla XIV).

No se han observado diferencias significativas para la resistencia al corte medida por métodos instrumentales y la dureza determinada por métodos sensoriales entre la carne procedente de canales refrigeradas lentamente y las refrigeradas rápidamente estimuladas con una tensión de 56 voltios y cambio de polaridad cada

10 segundos, lo que indica que se han conseguido similares niveles de dureza con el empleo de tratamientos diferentes (Tabla XXIV). La mayor efectividad de este tipo de estimulación con respecto a las restantes ensayadas se explica por su mayor descenso de pH durante la estimulación y mayor velocidad de glucólisis post-mortem ( $\Delta \text{pH}=0.75$ ;  $\text{dpH/dt}=0.30$ ); por su menor índice de endurecimiento con respecto a las canales refrigeradas lentamente (111.04%) y por el mayor grado de ablandamiento durante la conservación al estado refrigerado (62.00%)(Tablas VII, XIII y XIV).

#### IV.1.5.- Comparación entre la determinación de la textura de la carne por métodos objetivos y subjetivos.

Con el fin de comparar los diferentes análisis realizados para la determinación de la textura de la carne, se ha estudiado el grado de correlación existente entre la resistencia al corte medida en la célula de Kramer y la Warner-Bratzler y la dureza puesta de manifiesto por el jurado de degustación (Tabla XXV).

Se observa una correlación alta ( $r=0.64$ ) y significativa ( $P < 0.001$ ) entre la resistencia al corte medida en la célula de Kramer y la dureza determinada por el jurado de degustación, hecho que coincide con lo descrito por Shannon y col.(1957), Burrin y col.(1962) y Lee (1983). También se ha observado un grado de correlación alto ( $r=0.76$ ) y significativo ( $P < 0.001$ ) entre la resistencia al corte medida en la célula de Kramer y la Warner-Bratzler, fenómeno que coincide con lo señalado por algunos autores (Burrin y col.,1962; Sharran y col.,1965; Lee, 1983). Por el contrario, el grado de correlación entre el equipo de catadores y la Warner-Bratzler es bajo ( $r=0.20$ ) y significativo sólo al noventa por ciento. Comportamientos similares han sido descritos por Deatherage y Garnatz (1952) y Bayley y col.(1962), que, no obstante, difieren de las altas correlaciones señaladas por Pearson (1963) y Lee (1983) para este tipo de determinaciones. Los mismos autores indicaron, sin embargo, que el grado de correlación entre la célula de

Kramer y el jurado de degustación es superior al encontrado entre la Warner-Bratzler y el jurado de degustación.

Así pues, a través de los resultados obtenidos se deduce que para el análisis de la textura de la carne, se ha encontrado una correlación mayor entre la resistencia al corte medida en la célula de Kramer y la dureza determinada por el jurado de degustación, que entre ésta y la resistencia al corte medida en la Warner-Bratzler.

Tabla XXV.- Correlaciones entre los parámetros de dureza determinados por la célula de Kramer (K), Warner-Bratzler (W. B.) y jurado de degustación, durante el estudio de los diferentes estimuladores.

K - TP	r= 0.64	***
K - WB	r= 0.76	***
WB - TP	r= 0.20	*

\*\*\*, Significativa ( $P < 0.001$ ); \*, Significativa ( $P < 0.1$ ).

#### IV.2.- REFRIGERACION Y CONSERVACION AL ESTADO REFRIGERADO.

El estudio del efecto de la estimulación eléctrica sobre las características de la carne conservada al estado refrigerado se ha realizado de la manera indicada en la figura 14, llevándose a cabo la determinación de diferentes parámetros con periodicidades distintas. Durante las primeras 48 horas, se realizaron las medidas de temperatura, pH, glucógeno, ácido láctico, valor R, ATP y sus productos de degradación, así como la capacidad de retención de agua, que se llevó a cabo hasta las 72 horas post-mortem. A lo largo del período de conservación se efectuaron las siguientes determinaciones: análisis microbiológico, estudio electroforético de las proteínas miofibrilares, medida objetiva del color, análisis instrumental de textura y análisis sensorial.

##### IV.2.1.- Consecuencia del tratamiento durante las primeras horas post-mortem.

Como se ha señalado, el efecto del tratamiento se ha evaluado durante este período a través de los siguientes parámetros:

###### IV.2.1.1.- Determinación de la temperatura.

El comportamiento de la temperatura durante las 48 horas post-mortem (Tabla XXVI) está condicionada lógicamente por el tratamiento frigorífico efectuado. A partir de las 2 horas post-mortem se observan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) entre las muestras refrigeradas rápidamente y las refrigeradas lentamente, que se van a mantener hasta las 48 horas post-mortem.

Tabla XXVI.- Determinación de la temperatura y el pH durante el estudio de la refrigeración y conservación al estado refrigerado.

Período post-mortem (h)	Temperatura			pH		
	MNR	RRR	EER	MNR	RRR	EER
A.E. (1)			38.7			7.03
D.E. (2)			39.0			6.31
1/2	36.8 <sup>a</sup>	36.1 <sup>a</sup>	36.9 <sup>a</sup>	6.81 <sup>x</sup>	6.72 <sup>y</sup>	6.03 <sup>z</sup>
2	27.8 <sup>a</sup>	23.2 <sup>b</sup>	23.6 <sup>b</sup>	6.53 <sup>x</sup>	6.47 <sup>x</sup>	5.94 <sup>y</sup>
4	19.0 <sup>a</sup>	10.4 <sup>b</sup>	10.7 <sup>b</sup>	6.21 <sup>x</sup>	6.31 <sup>y</sup>	5.83 <sup>z</sup>
6	13.2 <sup>a</sup>	3.7 <sup>b</sup>	3.5 <sup>b</sup>	5.92 <sup>x</sup>	6.13 <sup>y</sup>	5.80 <sup>x</sup>
8	9.7 <sup>a</sup>	1.5 <sup>b</sup>	2.1 <sup>b</sup>	5.87 <sup>x</sup>	5.99 <sup>y</sup>	5.77 <sup>z</sup>
12	8.3 <sup>a</sup>	1.6 <sup>b</sup>	1.7 <sup>b</sup>	5.71 <sup>x</sup>	5.93 <sup>y</sup>	5.82 <sup>x</sup>
24	6.1 <sup>a</sup>	1.3 <sup>b</sup>	1.5 <sup>b</sup>	5.82 <sup>x</sup>	5.74 <sup>x</sup>	5.80 <sup>x</sup>
48	2.2 <sup>a</sup>	1.8 <sup>a</sup>	1.6 <sup>a</sup>	5.76 <sup>x</sup>	5.82 <sup>x</sup>	5.70 <sup>x</sup>

- (1) A.E.- Análisis realizados antes de la aplicación de la estimulación eléctrica.
- (2) D.E.- Análisis realizados después de la aplicación de la estimulación eléctrica.
- (3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas. ( $P < 0.05$ ).

No se han observado diferencias significativas en la temperatura de la carne como consecuencia de la aplicación de la estimulación eléctrica. Resultados análogos han sido descritos por Eikelenboom y col.(1981:1985), Fabiansson y Laser-Reutersward (1985) y Eikelenboom y Smulders (1986) con la utilización de bajos voltajes. No obstante, algunos autores han señalado el aumento de ésta al emplear corrientes de alto voltaje (Davey y col., 1976; George y col.,1980; Eikelenboom y col.,1985).

#### IV.2.1.2.- Determinación del pH.

La variación del pH durante las 48 horas post-mortem se reflejan en la tabla XXXVI. Los valores de pH oscilan entre 7.03 inmediatamente después del sacrificio, y 6.72 a los 30 minutos, alcanzando valores de 5.70 a las 48 horas. Dichos valores son similares a los encontrados por Shorthose (1978), Whiting y col. (1981), y Rashid y col.(1983), y superiores a los descritos por Chrystall y Hagyard (1976) y Morton y Newbold (1982) a las 48 horas p.m., aunque en corderos de diferente raza y mayor peso que los empleados en este trabajo.

El efecto que los tratamientos aplicados (estimulación eléctrica y/o velocidad de refrigeración) ejercen sobre la variación del pH se analiza a través de : el descenso provocado por la aplicación de la estimulación eléctrica ( $\Delta$  pH), su velocidad de descenso hasta alcanzar el pH final ( $dpH/dt$ ) y por el tiempo necesario para alcanzar valores de  $pH=6.0$  (Tabla XXXVII).

El  $\Delta$  pH producido con la aplicación de la estimulación es de 0.72, similar al determinado durante el estudio de las distintas estimulaciones ensayadas (Tabla VII) y análogos a los descritos por Shaw y Walker (1977) y Eikelenboom y col.(1981:1985) al emplear tensiones similares. Aunque son superiores a los señalados por otros autores (Chrystall y col.,1980, Taylor y Marshall 1980), que utilizaron voltajes inferiores (12 voltios) o períodos de tiempo más prolongados entre el sacrificio y la aplicación de



Tabla XXVII.- Tiempo, en horas, necesario para alcanzar pH=6.0, descenso del pH durante la estimulación ( $\Delta \text{pH}^{(1)}$ ) y descenso del pH durante el periodo de post- estimulación ( $\text{dpH}/\text{dt}^{(2)}$ ).

Muestras	Tiempo (horas) pH = 6.0	$\Delta \text{pH}$	$\text{dpH}/\text{dt}$
MNR	4-6	0.00	0.10
RRR	8-12	0.00	0.06
EER	1-2	0.72	0.30

(1)  $\Delta \text{pH} = \text{pH antes de la estimulación} - \text{pH después de la estimulación}$

(2)  $\text{dpH}/\text{dt} = \frac{\text{pH inicial} - \text{pH final}}{\text{Tiempo (horas) en alcanzar pH final}}$

la estimulación eléctrica, que los empleados en el presente trabajo.

La distinta velocidad de descenso del pH en las canales no estimuladas se justifica en base al tratamiento frigorífico aplicado, de manera que en las canales refrigeradas rápidamente el  $\text{dpH}/\text{dt}$  es de 0.06 y en las canales refrigeradas lentamente es de 0.10. Con la aplicación de la estimulación eléctrica el  $\text{dpH}/\text{dt}$  alcanza los valores máximos (Tabla XXVII), que son análogos a los observados en el estudio de las diferentes condiciones de estimulación (Tabla VII).

Las canales estimuladas alcanzan valores de  $\text{pH}=6.0$  a las 2 horas p.m., mientras que, las canales refrigeradas rápidamente sin estimular tienen en ese momento un pH de 6.47, precisando 8 horas para alcanzar el  $\text{pH}=6.0$ . Comportamiento similares han sido descritos por Eikelenboom y col. (1981:1985), con empleo de bajos voltajes (85 voltios). Cuando la velocidad de enfriamiento es más lenta, el tiempo hasta llegar a pH 6.0 se reduce (Tabla XXVII). El período de tiempo en alcanzar este valor de pH por efecto de la estimulación eléctrica varía, por una parte, por el voltaje empleado (250 voltios - 3 horas, Carse, 1973 ; tensiones crecientes de 240 a 420 voltios - 2 horas, Whiting y col., 1981; 3600 voltios - 1 hora, Chrystall y Hagyard, 1976), y por otra, por el tiempo transcurrido entre el sacrificio y la aplicación de la estimulación eléctrica (Morton y Newbold (1982), con tensiones de 45 voltios, y Shaw y Walker (1977) con tensiones de 110 voltios, tardaron 5 horas en alcanzar este pH al estimular 30 minutos después del sacrificio).

Las canales refrigeradas lentamente alcanzan  $\text{pH}=6.0$  cuando su temperatura es de  $12-18^{\circ}\text{C}$  (Tabla XXVI), mientras que con la refrigeración rápida se alcanzan temperaturas inferiores a  $10^{\circ}\text{C}$  cuando el pH es de 6.31, de manera que estas canales se encuentran en las condiciones adecuadas para que tenga lugar el acortamiento muscular por frío (Bendall, 1973a: 1975). Sin embargo, con el mis-

mo tratamiento frigorífico y mediante la aplicación de la estimulación eléctrica, se logra evitar que dicho fenómeno pueda existir (Tabla XXVI).

#### IV.2.1.3.- Determinación del glucógeno.

La variación del contenido en glucógeno durante las 48 horas post-mortem queda reflejada en la figura 21.

Las concentraciones iniciales de glucógeno están comprendidas entre 75-80  $\mu$ M/g, disminuyendo paulatinamente, hasta alcanzar, a las 48 horas, valores de 16-20  $\mu$ M/g. Tanto las concentraciones iniciales como las determinadas a las 48 horas, son similares a las descritas por Darymple y Hamm (1974), Sorinmade (1978) y McVeigh y Tarrant (1982). Concentraciones iniciales inferiores, en contradas por algunos autores, han sido explicadas por la utilización de razas o alimentación diferentes, o por el empleo de cortos períodos de descanso previos al sacrificio (Shorthose, 1978).

La velocidad de degradación del glucógeno durante el período estudiado va a estar en función del tratamiento a que hayan sido sometidas las canales. El empleo de velocidades de refrigeración más rápidas (RRR) dan lugar, lógicamente, a la degradación más lenta del glucógeno; así, mientras que las muestras procedentes de canales refrigeradas rápidamente emplean alrededor de 24 horas para descender a los niveles mínimos, éstos se alcanzan a las 12 horas en canales refrigeradas lentamente (MNR). El efecto de la temperatura sobre la velocidad de degradación del glucógeno se puede observar a través de los trabajos de Hamm y Van Hoof (1971), Darymple y Hamm (1974) y Nuss y Wolfe (1981).

El empleo de la estimulación eléctrica da lugar a un descenso del 25% de la concentración inicial de glucógeno, alcanzando se los niveles mínimos a las 6 horas post-mortem. Así pues, la velocidad del descenso del contenido en glucógeno ( $dG/dt$ ) es cuatro veces mayor en las muestras estimuladas ( $dG/dt=10$ ) que en las no

```

10 PLOTTER IS D05
20 LIMIT 10,210,10,140
30 SCALE -3,32,-1,30
40 XAXIS 0,4,0,30
50 YAXIS 0,6,0,30
60 LINETYPE 4
70 MOVE 15,23.1
80 DRAW 2,18.6
90 DRAW 4,13.8
100 DRAW 6,9.3
110 DRAW 12,6.9
120 DRAW 24,4.8
130 DRAW 30,5.8
140 LINETYPE 6
150 MOVE 15,22.2

```

$\gamma = 60$

$\frac{1}{2} \times 30$   
 $\frac{1}{2} \times 30$   
 $K = 3.33$

```

160 DRAW 3,17.7
170 DRAW 4,15.3
180 DRAW 6,13.5
190 DRAW 12,9.3
200 DRAW 24,5.7
210 DRAW 30,5.9
220 LINETYPE 8
230 MOVE 12,24.3
240 DRAW 12,18
250 DRAW 15,16.2
260 DRAW 2,11.7
270 DRAW 4,7.2
280 DRAW 6,6.3
290 DRAW 12,6.4
300 DRAW 24,5.7

```

```

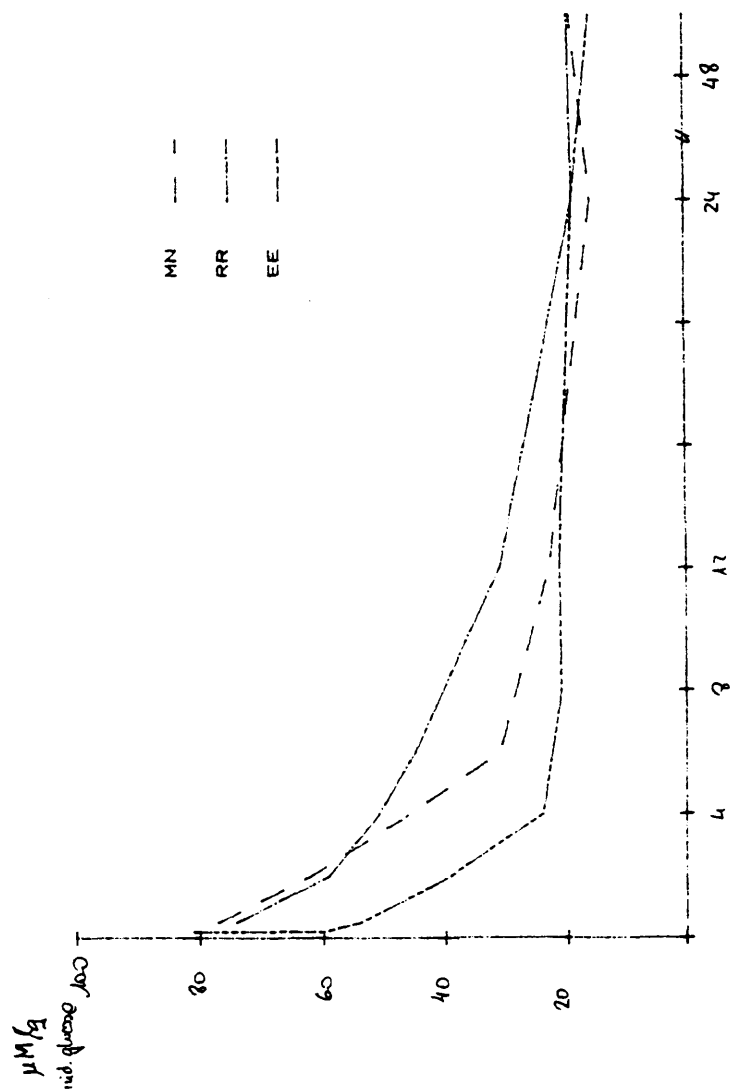
310 DRAW 30,4.8
320 MOVE 22,25
330 LOG 4 @ CSIZE 3,1,0
340 LABEL "MN"
350 LINETYPE 4
360 MOVE 24,25
370 DRAW 26,25
380 MOVE 22,22.5
390 LINETYPE 6
400 LOG 4 @ CSIZE 3,1,0
410 LABEL "RR"
420 MOVE 24,22.5
430 DRAW 26,22.5
440 MOVE 22,20
450 LOG 4 @ CSIZE 3,1,0

```

```

370 DRAW 26,25
380 MOVE 22,22.5
390 LINETYPE 6
400 LOG 4 @ CSIZE 3,1,0
410 LABEL "RE"
420 MOVE 24,22.5
430 DRAW 26,22.5
440 MOVE 22,20
450 LOG 4 @ CSIZE 3,1,0
460 LABEL "EE"
470 LINETYPE 8
480 MOVE 24,20
490 DRAW 26,20
500 END
12993

```



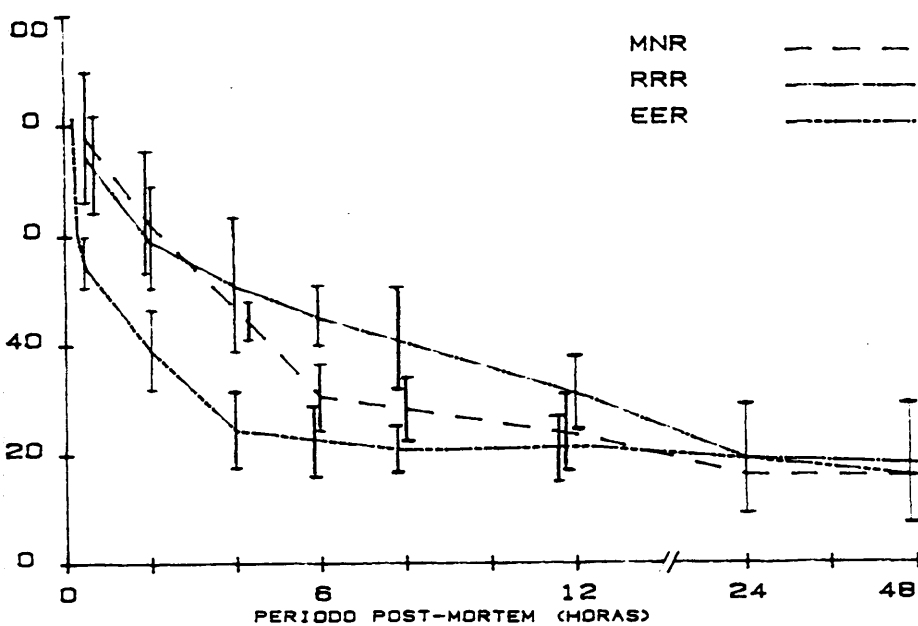


Fig. 21.- Evolución del contenido en glucógeno del músculo (expresado como unidades de glucosa) durante las 48 horas post-mortem. Las líneas verticales representan las desviaciones típicas.

estimuladas y refrigeradas rápidamente ( $dG/dt=2.5$ ), y más del doble que con la refrigeración lenta ( $dG/dt=4$ ). Esta mayor velocidad en la degradación del glucógeno por el empleo de la estimulación eléctrica ha sido descrita por otros autores (Bendall, 1980; Asghar y Henrickson, 1982), aunque no pudo ser determinada por Fabiansson y Laser Reutersward (1985), debido a la gran variabilidad que encontraron en su concentración inicial.

#### IV.2.1.4.- Determinación del ácido láctico.

La variación del contenido del ácido láctico durante las 48 horas post-mortem está representada en la figura 22.

Los valores iniciales del ácido láctico varían en torno a 18-26  $\mu M/g$ , y son similares a los descritos por Darymple y Hamm (1974). Las concentraciones más elevadas señaladas por Mothersill y McLoughlin (1977) están relacionadas con los valores iniciales de pH, inferiores a los encontrados en este trabajo. Las concentraciones de ácido láctico a las 48 horas p.m. oscilan entre 90-100  $\mu M/g$  y son análogas a las encontradas por Van Hoof y Hamm (1973) y Darymple y Hamm (1974), aunque inferiores a las concentraciones determinadas por Fabiansson y Laser Reutersward (1985) en carne de vacuno con pH finales más bajos a los obtenidos en el presente estudio.

La velocidad con que aumenta la concentración de ácido láctico durante el período estudiado va a estar condicionada tanto por el tratamiento frigorífico ensayado como por la aplicación de la estimulación eléctrica. El empleo de velocidades de refrigeración más altas va a determinar cambios menos bruscos en el contenido en ácido láctico que los detectados con el empleo de refrigeraciones lentas. Estas menores velocidades de formación de ácido láctico en las muestras RRR respecto a las MNR se manifiestan entre las 4 y las 24 horas p.m. Mientras que las muestras MNR alcanzan las concentraciones finales a las 12 horas, las muestras RRR lo hacen a las 24 horas; este comportamiento resulta lógico, teniendo

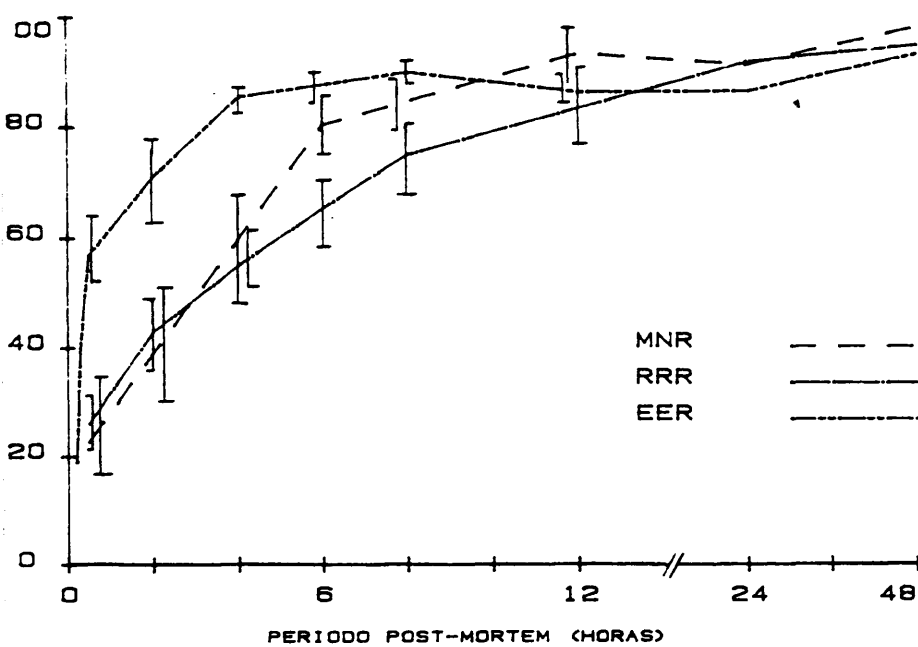


Fig. 22.- Evolución del contenido en ácido láctico del músculo, durante las 48 horas post-mortem. Las líneas verticales representan las desviaciones típicas.



en cuenta la variación de las concentraciones de glucógeno (Fig. 21) y los valores de pH (Tabla XXVI).

El empleo de la estimulación eléctrica provoca un rápido aumento en los niveles de ácido láctico, como consecuencia de la rápida degradación de glucógeno (Fig. 21), y durante la aplicación de la corriente eléctrica experimenta un aumento de alrededor de 20  $\mu$ M/g, alcanzándose los niveles finales a las 8 horas. Comportamientos similares han sido descritos por Asghar y Henrickson (1982).

La dependencia entre el descenso en la concentración de glucógeno y la formación del ácido láctico ha permitido establecer una relación lineal ( $\mu$ M lactato = 115.35 - 1.19  $\mu$ M glucógeno;  $r=0.79$ ), que es significativa al noventa y nueve por ciento. También se ha podido establecer una relación entre el descenso de pH y la formación de ácido láctico ( $\mu$ M lactato = 453.29 - 63.31 pH;  $r=0.86$ ;  $P < 0.01$ ), de manera que el descenso en una unidad de pH en el músculo origina la formación de 63  $\mu$ M/g de lactato. Resultados semejantes han sido encontrados por Bendall (1973b) y Mothersill y McLoughlin (1977), y por Newbold y Scopes (1967) y Bendall (1979), con valores de formación de lactato por unidad de pH de 68  $\mu$ M/g y 60  $\mu$ M/g respectivamente.

#### IV.2.1.5.- Determinación del ATP y sus productos de degradación.

La determinación del ATP y sus productos de degradación se ha realizado tanto por métodos directos, por medio de la Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia (CLAE), como por métodos indirectos, mediante la determinación del valor R.

##### IV.2.1.5.1.- Determinación de ATP y sus productos de degradación mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia.

Los niveles de ATP, ADP, AMP, IMP, Hx y HxR, determina-

dos por Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia se encuentran reflejados en las figuras 23, 24, 25 y 26. También se representan, a modo de ejemplo, los cromatogramas de los distintos tratamientos ensayados a lo largo del período estudiado (Fig.27, 28 y 29).

Las concentraciones iniciales de ATP (Fig.23), se sitúan en torno a 5.3  $\mu\text{M/g}$ , descendiendo durante el período estudiado, de manera que a las 24 horas p.m. sólo se han logrado determinar trazas. Niveles análogos han sido encontrados por Whiting y col., (1981) y Morton y Newbold (1982) en músculo de cordero. Sin embargo, Bendall y col.(1976) y Petäjä y col.(1985) han señalado la presencia de concentraciones iniciales de ATP superiores (6.0-6.4

$\mu\text{M/g}$ ) en músculo de vacuno. Tanto los niveles iniciales como los obtenidos a las 24 horas p.m. han sido similares en las tres muestras, variando la velocidad de degradación en función del tratamiento realizado.

En los músculos procedentes de canales refrigeradas lentamente (MNR), los niveles de ATP descienden en forma rápida, lográndose a alcanzar el 50% del ATP inicial a las 4 horas p.m., mientras que en las canales refrigeradas rápidamente no estimuladas (RRR), se llega a estos niveles a las 6 horas. La mayor velocidad de degradación del ATP en las muestras MNR se debe al efecto de la temperatura (Tabla XXVI). Fenómenos similares han sido descritos por otros autores (Bowling y col.,1978; Nuss y Wolfe, 1981). Van Hoof y Hamm (1973) emplearon entre 2-3 horas para conseguir porcentajes del 50% del ATP inicial a 15°C de temperatura, mientras que Hamm y Van Hoof (1971), con el empleo de temperaturas inferiores (4°C), tardaron más tiempo (8 horas) en alcanzar estos niveles.

Además de las condiciones adecuadas de pH y temperatura, para que tenga lugar el acortamiento muscular por frío (Fig.2) también son necesarios niveles de ATP suficientes, aunque estos varían a juicio de los diferentes autores (50% del ATP inicial para Bendall (1976) o del 25% para Penny (1980), o entre 0.3 y 1.5

$\mu\text{M ATP/g}$  (Bendall, 1973a)). Por lo tanto, en la carne procedente

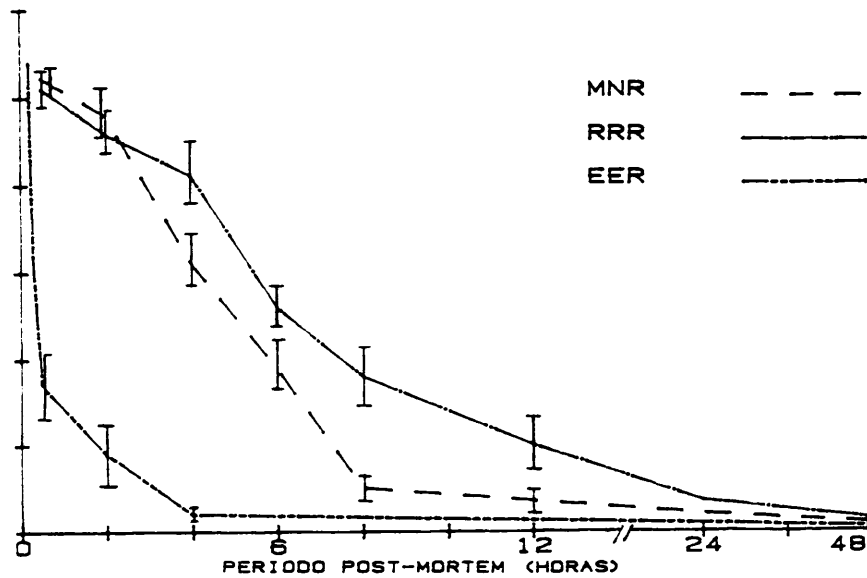


Fig. 23.- Evolución del contenido de Adenosin 5'trifosfato (ATP) en el músculo, durante las 48 horas post-mortem. Las líneas verticales representan las desviaciones típicas.

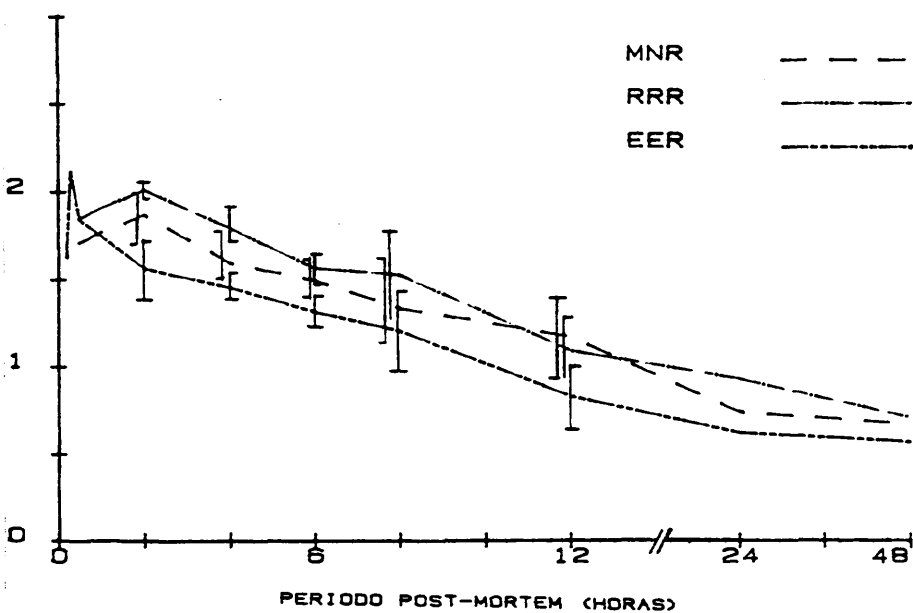


Fig. 24.- Evolución del contenido de Adenosin 5'difosfato (ADP) en el músculo, durante las 48 horas post-mortem. Las líneas verticales representan las desviaciones típicas.

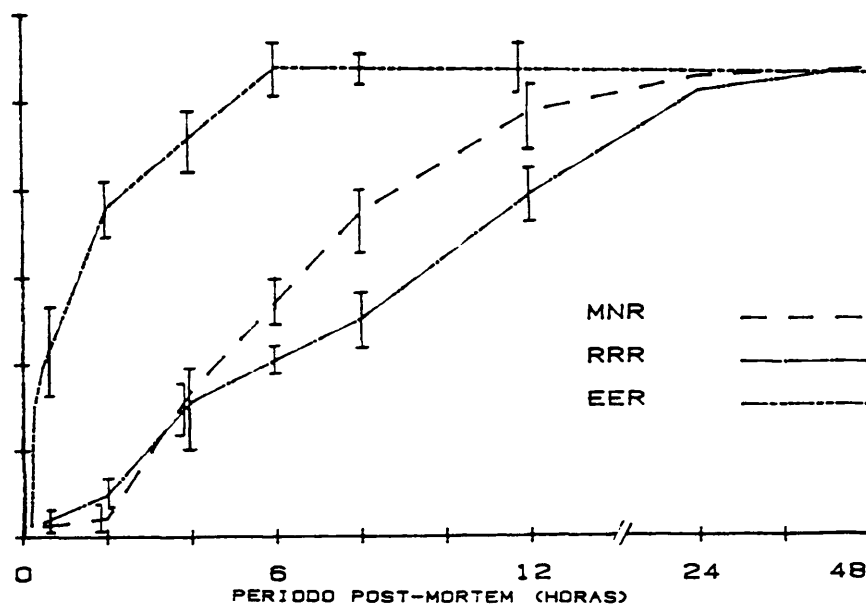


Fig. 25.- Evolución del contenido de Adenosin 5' monofosfato (AMP) e Inosina monofosfato (IMP) en el músculo, durante las 48 horas post-mortem. Las líneas verticales representan las desviaciones típicas.

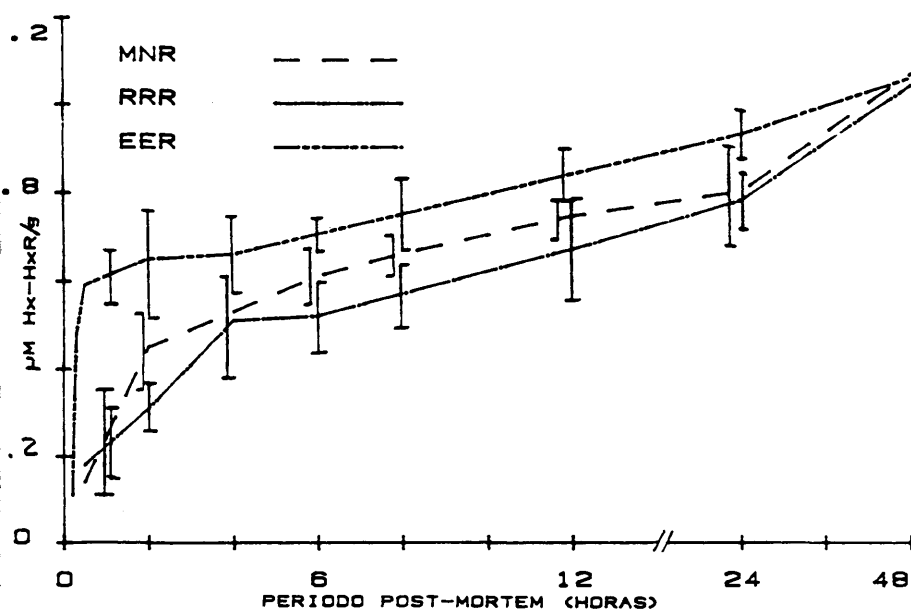


Fig. 26.- Evolución del contenido de Inosina (H x R) e Hipoxantina (durante las 48 horas post-mortem. Las líneas verticales representan las desviaciones típicas.

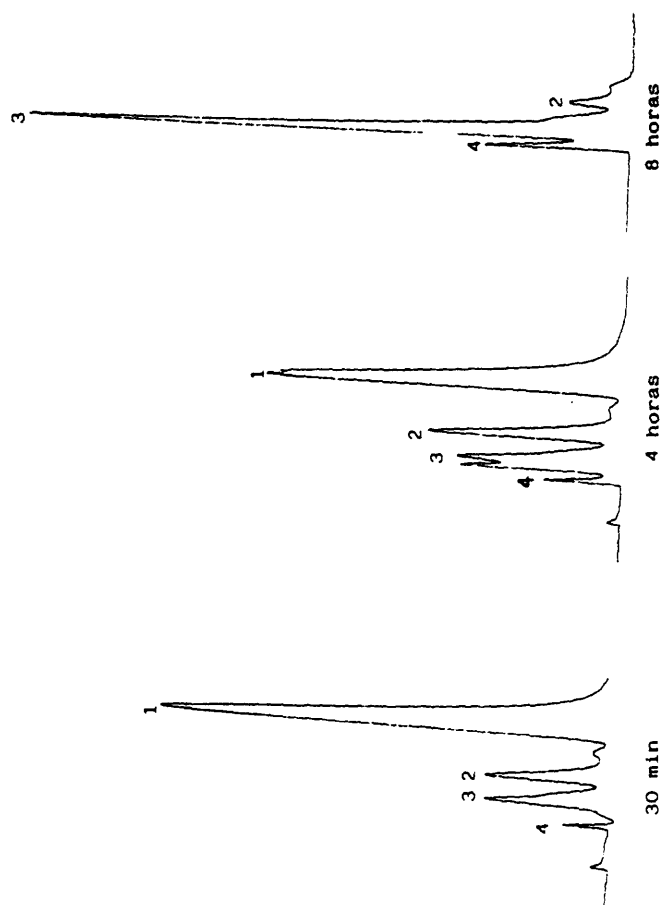


Fig. 27.- Evolución del ATP y sus productos de degradación, determinados por Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia, a los 30 min, 4h y 8h post-mortem, en las muestras refrigeradas lentamente (MMR), siendo (1) ATP, (2) ADP, (3) AMP-IMP y (4) Hx-HxR.

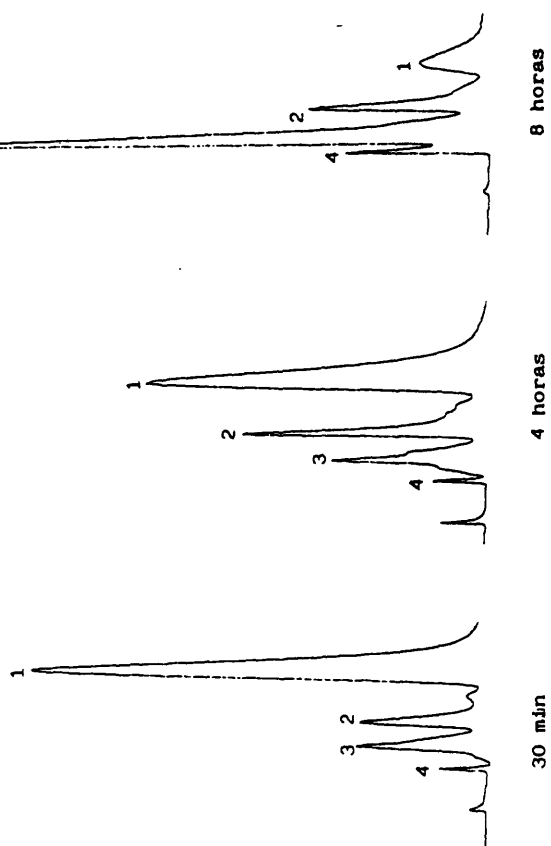


Fig. 28.- Evolución del ATP y sus productos de degradación, determinados por Cromatografía Líquida de Alta Eficacia, a los 30 min, 4h y 8h post-mortem, en las muestras refrigeradas rápidamente (RRR), siendo (1) ATP, (2) ADP, (3) AMP-IMP y (4) Hx-HxR.



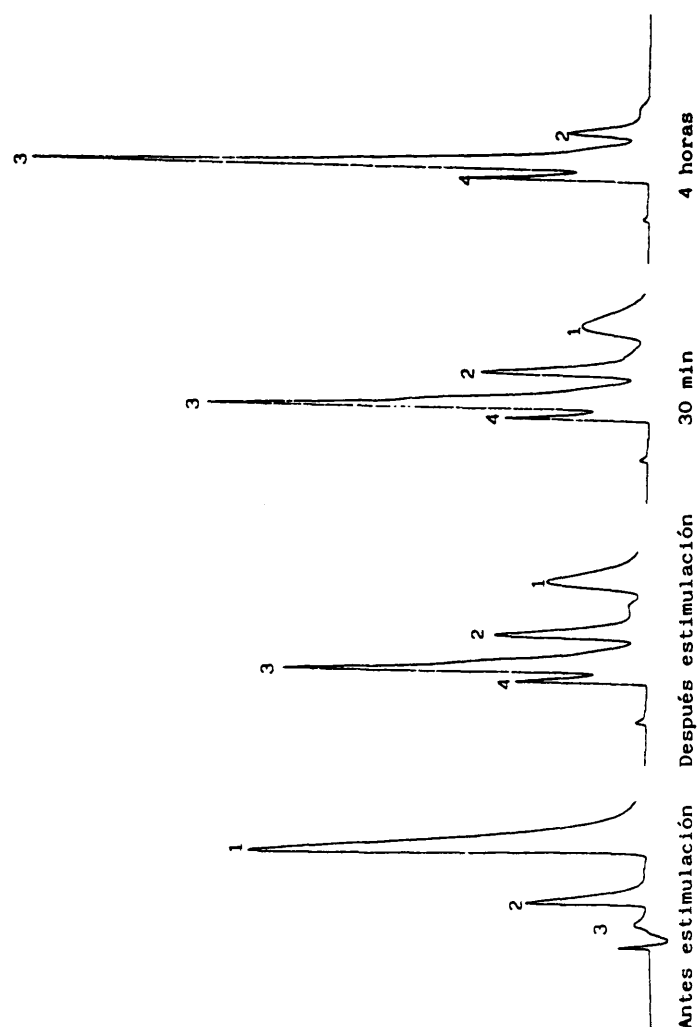


Fig. 29.- Evolución del ATP y sus productos de degradación, determinados por Cromatografía de Líquidos de Alta Eficacia, en las muestras refrigeradas rápidamente estimuladas (EER), antes y después de realizarse la estimulación y a los 30 min y 4h post-mortem. Siendo (1) ATP, (2) ADP, (3) AMP-IMP y (4) Hx-HxR.

de canales refrigeradas rápidamente no estimuladas se dan las condiciones para la aparición de este fenómeno (Tabla XXVI y Fig.23).

En las condiciones ensayadas la estimulación eléctrica logra producir una rápida degradación del ATP (Fig.23). Durante la aplicación del estímulo se produce un descenso del 45% del ATP inicial, alcanzándose a los 30 minutos niveles del 50%. Períodos similares de tiempo han sido descritos por Whiting y col.(1981) al emplear corrientes de tensiones más elevadas (420 voltios), pero estimulando a los 45 minutos p.m., mientras que Morton y Newbold (1982), con tensiones inferiores (45 voltios) precisaron períodos de tiempo más prolongados (1 hora). Así pues, se puede señalar que el efecto de la estimulación eléctrica sobre la degradación del ATP está en función tanto del voltaje empleado como del tiempo transcurrido entre el sacrificio y su aplicación.

Las concentraciones de ADP descienden en todas las muestras a partir de las 2 horas p.m., permaneciendo casi constantes a partir de las 24 horas (Fig.24). Similares comportamientos han sido descritos por Calkins y col.(1982) y Fabiansson y Laser Reuterswärd (1985). El aumento observado durante la aplicación del estímulo eléctrico en las muestras EER, se relaciona con la rápida degradación del ATP (Fig.23). No se observan diferencias en la concentración de ADP por los diferentes tratamientos efectuados, a pesar de las distintas velocidades de degradación del ATP (Fig.23).

Las concentraciones de AMP son inferiores a  $0.3 \mu\text{M/g}$  y prácticamente constantes durante las 48 horas p.m. (Calkins y col. 1982; Fabiansson y Laser Reuterswärd, 1985), debido a que su desaminación a IMP es casi instantánea (Honikel y Fischer, 1977). Es por ello por lo que se van a considerar conjuntamente el contenido de AMP y el IMP teniendo en cuenta que las modificaciones en este valor son debidas fundamentalmente a las variaciones del IMP. Según se observa en la figura 25, aunque los niveles iniciales y finales son los mismos, existe en las canales refrigeradas lentamente mayor concentración de IMP que en las refrigeradas rápidamente, a

partir de las 4 y hasta las 24 horas p.m., debido fundamentalmente al efecto de la temperatura (Tabla XXVI), que provoca mayor velocidad de degradación del ATP en las muestras MNR (Fig.23). Fenómenos similares han sido descritos por Van Hoof y Hamm (1973) en músculo de vacuno.

El efecto de la estimulación eléctrica da lugar a la mayor velocidad de formación del IMP, alcanzándose a las 6 horas p.m. los mismos niveles de IMP que los determinados a las 24 horas p.m. en las muestras no estimuladas (MNR y RRR). Este mismo comportamiento ha sido descrito por Fabiansson y Laser Reutersward (1985), al emplear bajos voltajes (85 voltios).

Las concentraciones de ATP e IMP guardan una relación inversa durante el período estudiado ( $\mu\text{M IMP/g} = 6.37 - 1.25 \mu\text{M ATP/g}$ ;  $r = -0.91$ ), mientras que no se ha podido establecer este tipo de relación entre el ADP y el IMP.

Las concentraciones de Hx y HxR se dan en forma conjunta en la figura 26. A lo largo de las 48 horas p.m. se observa un incremento en la concentración de estos compuestos, debido a la degradación del IMP, que, aunque es mayor en las muestras MNR no es diferentemente significativa del encontrado en las muestras RRR. Las muestras estimuladas manifiestan mayor concentración que las no estimuladas, de manera análoga a lo observado por otros autores (Calkins y col., 1982; Fabiansson y Laser Reutersward, 1985).

#### IV.2.1.5.2.- Determinación del valor R.

Los índices del valor R quedan reflejados en la figura 30. Tanto los valores iniciales como los obtenidos a las 48 horas p.m., son similares para los tres tipos de tratamientos y coinciden con los señalados por Calkins y col. (1982), Fabiansson y Laser Reutersward (1985) y García-Matamoros y col. (1985).

La variación del valor R durante las 24 horas p.m. va a

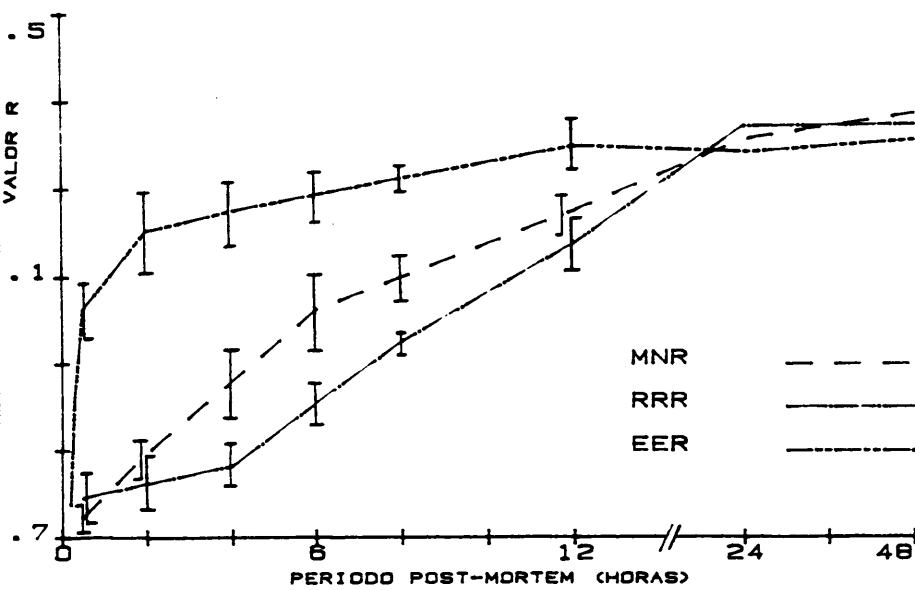


Fig. 30.- Evolución del valor R durante las 48 horas post-mortem.  
Las líneas verticales representan las desviaciones típicas

estar condicionada por el tratamiento a que hayan sido sometidas las canales. En función de la velocidad de refrigeración ensayada se observan valores más elevados entre las 2 y 12 horas p.m. en las muestras MNR que en las RRR, lo que indica que existe mayor velocidad de degradación de los nucleótidos de la adenina cuando la temperatura es más elevada.

El efecto de la estimulación eléctrica se manifiesta por un aumento del valor R de 0.75 a 0.91 durante la aplicación del estímulo, manteniendo valores más elevados que el resto de las muestras hasta las 24 horas p.m. La evolución del valor R es paralela a la mayor velocidad de degradación de ATP en estas muestras (Fig. 23).

Se puede establecer una relación lineal entre el descenso en la concentración del ATP, a lo largo del tiempo que se tarda en alcanzar su concentración mínima y el aumento del valor R (valor  $R = 1.24 - 0.1 \mu M \text{ ATP/g}$ ;  $r=0.93$ ), que es similar a la que se obtiene cuando se tratan del mismo modo los resultados encontrados por Honikel y col.(1983) (valor  $R = 1.19 - 0.09 \mu M \text{ ATP/g}$ ;  $r=0.96$ ), lo que permite sustituir la determinación del ATP por métodos enzimáticos o cromatográficos, muy laboriosos, por una técnica más sencilla y rápida de efectuar, como es el valor R.

Honikel y col.(1981) en función de la pérdida de extensibilidad del músculo, indicaron que la instauración del rigor mortis tiene lugar cuando se alcanzan los siguientes valores:  $pH=5.9$ ,  $ATP= 1 \mu M/g$  y valor  $R=1.10$ . Aplicando este criterio se puede indicar que el rigor mortis se instaura entre las 8 y 12 horas p.m. en las muestras refrigeradas lentamente, mientras que en las refrigeradas rápidamente no estimuladas, lo haría entre las 12 y 24 horas p.m., y en las estimuladas, éste tendría lugar entre las 2-4 horas p.m., poniéndose de manifiesto, de esta manera, el efecto de los tratamientos aplicados sobre el momento de la instauración del rigor mortis.

#### IV.2.1.6.- Estudio de la capacidad de retención de agua.

Los resultados de la capacidad de retención de agua (CRA) que se determinan durante las 72 horas post-mortem, se recogen en la Tabla XXVIII. La variación de este parámetro a lo largo del período estudiado depende de los tratamientos aplicados y se corresponde con la instauración del rigor mortis y la evolución del pH. Así, se ha observado que el tiempo necesario para alcanzar los niveles más bajos en la CRA, es similar al requerido para alcanzar el rigor mortis, según el criterio expuesto en el apartado IV.2.1.5 (ATP, valor R y pH). Durante el desarrollo de este fenómeno la CRA es mínima, debido, por una parte, al efecto del pH (Schut, 1976), y por otra, al grado de contracción de la fibra muscular (Offer y col., 1984).

Durante las 24 horas post-mortem, se ha observado un descenso de la CRA en todas las muestras, estabilizándose después, hasta las 72 horas, debido al mantenimiento de los valores de pH durante este último período. No se han observado diferencias significativas entre las muestras MNR y RRR, lo que indica la poca influencia del tratamiento frigorífico sobre la CRA, coincidiendo con los comportamientos descritos por Honikel y col. (1981b) y Jolley y col. (1981). Se han realizado diversos estudios sobre la influencia del acortamiento muscular por frío sobre la CRA, con resultados contradictorios entre sí (Davey y Gilbert, 1975; Locker y Daines, 1976; Powell, 1978), indicando que la CRA, durante las primeras horas después del sacrificio, está más condicionada por la variación de pH que por la velocidad de refrigeración empleada.

Algunos autores han descrito descensos en la CRA hasta la instauración del rigor mortis (pH 5.9) (Bendall, 1973a; Honikel y col., 1981a). En este trabajo se ha establecido una relación lineal entre el descenso de pH y el descenso de la CRA, hasta el momento de la instauración del rigor mortis ( $\text{pH} = 3.68 + 0.047 \text{ CRA}$ ;  $r = 0.81$ ;  $P < 0.01$ ).

Tabla XXVIII.- Determinación de la capacidad de retención de agua, durante la refrigeración y conservación al estado refrigerado.

Tras	Período post-mortem (horas)				
	2	4	8	24	72
R	62.13 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	53.47 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	44.37 <sup>c</sup> <sub>1,2</sub>	45.39 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	44.16 <sup>c</sup> <sub>1</sub>
R	60.52 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	54.29 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	47.72 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	42.86 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	43.38 <sup>d</sup> <sub>1</sub>
R	48.33 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	44.86 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	40.63 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	43.97 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	44.45 <sup>b</sup> <sub>1</sub>

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Algunos autores no han observado mayor liberación de exudado por el rápido descenso de pH cuando las temperaturas todavía permanecen elevadas producido durante la estimulación eléctrica (Tabla XXVI) (Hamm, 1979; Bendall, 1980; Lawrie, 1981), como sucede en las canales de cerdo PSE, en análogas circunstancias (Fischer y col., 1979). Este fenómeno se ha intentado explicar por la disminución de iones calcio en el sarcoplasma en los músculos estimulados o porque a pesar de acelerarse la glucólisis post-mortem por la aplicación de la estimulación eléctrica, ésta es todavía más lenta que la que tiene lugar en canales de cerdo PSE (Lawrie, 1981).

#### IV.2.2.- Consecuencia del tratamiento durante la conservación al estado refrigerado.

Como se ha señalado, durante el período de conservación al estado refrigerado, se han realizado las siguientes determinaciones: análisis microbiológicos, estudio electroforético de las proteínas miofibrilares, estudio del color por métodos objetivos, análisis instrumental de textura y análisis sensorial.

##### IV.2.2.1.- Análisis microbiológicos.

La determinación de los gérmenes viables y psicrotrofos viene reflejada en las figuras 31 y 32. Los valores iniciales tanto de los gérmenes viables ( $1.2 \times 10^3$ ) como de los microorganismos psicrotrofos ( $4.2 \times 10^2$ ) son considerados como normales y resultan análogos a los descritos por Moerman (1972). Tras un período de latencia, se observa un incremento en el número de microorganismos a lo largo de la conservación, que a los 21 días es superior a  $10^7$  gérmenes por gramo de carne, lo que supone que esta carne sea rechazable según las recomendaciones del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (1982). Al final del período estudiado no se han detectado los olores anormales que a estos niveles de desarrollo microbiano habían sido descritos por Ayres (1960) en canales de vacuno; ello podría deberse a que para que tengan lugar dichos olo-



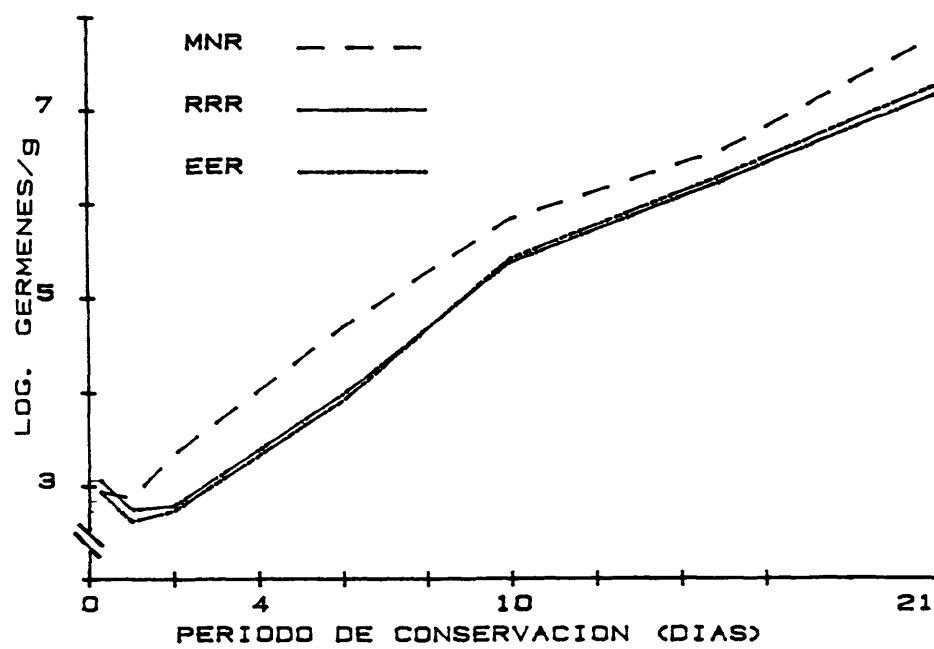


Fig. 31.- Evolución de los microorganismos viables a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

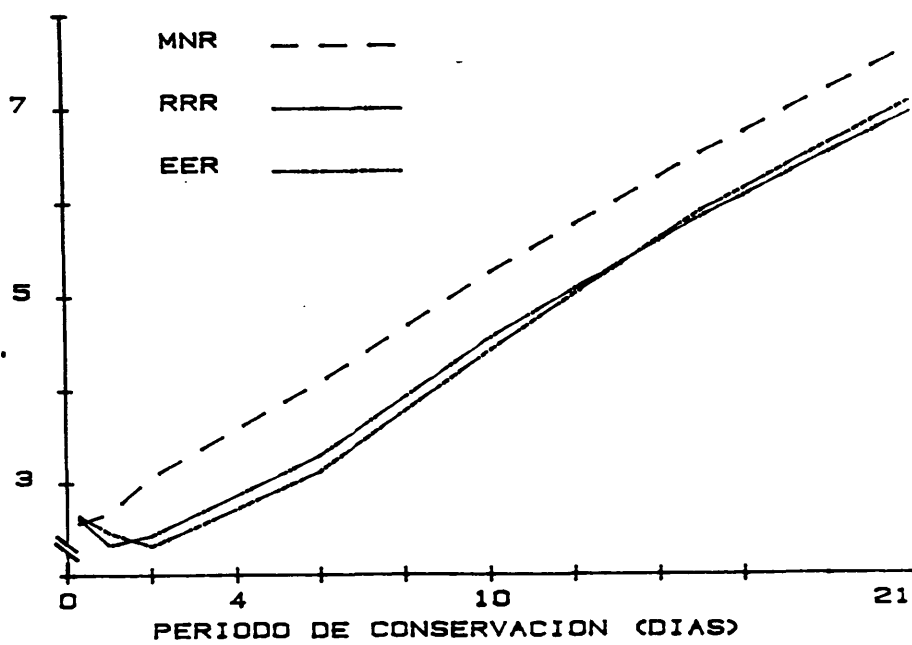


Fig. 32.- Evolución de los microorganismos psicrotrofos a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

res se requieren niveles de contaminación más elevados, en torno a  $4 \times 10^8$  gérmenes/g (Dainty y col., 1975).

Las canales sometidas a velocidades de refrigeración lentas (MNR) manifiestan mayor desarrollo de microorganismos que el observado en las muestras refrigeradas rápidamente (RRR y EER), desde el segundo día de conservación y hasta el final de la misma.

No se ha observado ningún efecto por la aplicación de la estimulación eléctrica, no encontrándose diferencias significativas entre las muestras refrigeradas rápidamente. Comportamientos similares han sido descritos por Hall y col. (1980), Taylor y col. (1981) y Kotula (1981), quienes señalaron la poca efectividad de la estimulación eléctrica, tanto de alto como de bajo voltaje, sobre el desarrollo de los microorganismos. Sin embargo, Riley y col. (1980) y Contreras y Harrison (1981) determinaron un menor desarrollo de éstos por el empleo de la estimulación eléctrica.

En cuanto al recuento de enterobacteráceas, se han observado inicialmente niveles de  $4 \times 10^1$  gérmenes/g, siendo inferiores a las recomendaciones realizadas por el Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (1982), lo que indica el buen estado higiénico-sanitario de las muestras, no detectándose, independientemente del tratamiento realizado, a partir del segundo día de conservación, como cabría esperar, coincidiendo con el comportamiento descrito por Smulders y col. (1984).

A la vista de los resultados se puede indicar que el desarrollo de los microorganismos durante la refrigeración y conservación al estado refrigerado, no está condicionado por la aplicación de la estimulación eléctrica, sino por los diferentes tratamientos frigoríficos ensayados.

#### IV.2.2.2.- Estudio electroforético de las proteínas miofibrilares.

En las figuras 33, 34 y 35 se representan las curvas densitométricas de las proteínas miofibrilares, determinadas en electroforesis en gel de poliacrilamida en dodecil sulfato sódico (PAGE-SDS), en diferentes etapas del período de conservación (1, 10 y 22 días).

Aunque se ha observado cierta degradación de la actina cuando se conserva la carne a temperaturas elevadas, 37°C (Schwartz y Bird, 1977; Okitani y col., 1980; Penny, 1980), diversos autores han señalado que durante la conservación de la carne a temperaturas de refrigeración o congelación, ésta apenas sufre fenómenos de degradación (Robbins y col., 1979; Penny y Ferguson-Price, 1979; Bechtel y Parrish, 1983; Wagner y Añon, 1986). Esto permite utilizar a la actina, en dichas condiciones de conservación, como referencia para comparar el aumento o disminución del resto de las proteínas miofibrilares. El comportamiento de las diferentes proteínas (miosina, troponina-T y compuestos de 30000, 55000 y 95000 dalton) a lo largo del período ensayado, se estudia mediante la variación que experimenta la relación entre las áreas de dichos compuestos y la actina.

Esta relación en el caso de la miosina desciende de manera significativa ( $P < 0.05$ ) en todas las muestras, lo que indica la existencia de cierta degradación de la miosina durante la conservación al estado refrigerado (Tabla XXIX). Comportamientos análogos han sido puestos de manifiesto por otros autores (Yates y col., 1983; Bechtel y Parrish, 1983; Babiker, 1985). Por otra parte, no se han encontrado diferencias significativas entre los diferentes tratamientos llevados a cabo. Penny y Ferguson (1979) y Babiker y Lawrie (1983), indicaron que la degradación de la miosina se incrementa en gran medida cuando se mantiene la carne a temperaturas elevadas, 40°C.

La degradación de la miosina justifica el aumento de proteínas de 95000 y 55000 dalton (Yates y col., 1983; Koohmaraie y col., 1984a; Babiker, 1985). La variación relativa del contenido de

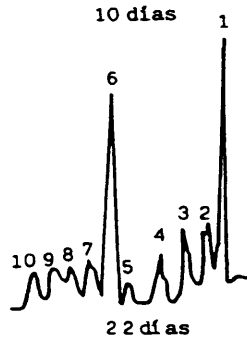
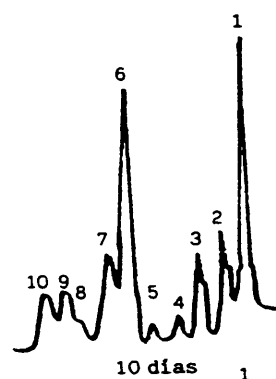
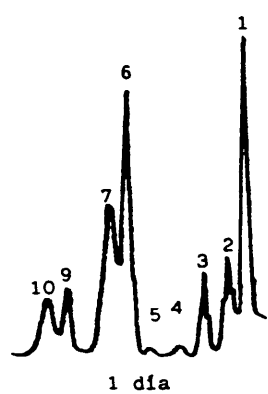


Fig. 33.- Curvas densitométricas de las proteínas miofibrilares de las muestras refrigeradas lentamente (MNR), durante la conservación al estado refrigerado (1, 10 y 22 días) siendo: (1) Miosina, (2) M y C-proteínas, (3)  $\alpha$ -actinina, (4) 95.000 dalton, (5) 55.000 dalton, (6) ACtina, (7) Troponina-T, (8) 30.000 dalton, (9) Miosina cadena ligera 1 y Troponina-I, (10) Troponina-C y Miosina Cadena ligera 2.

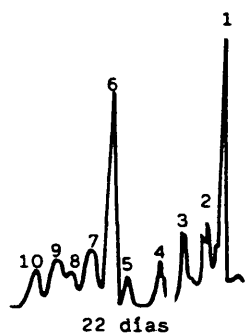
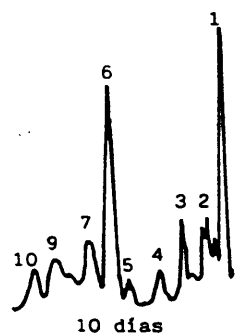
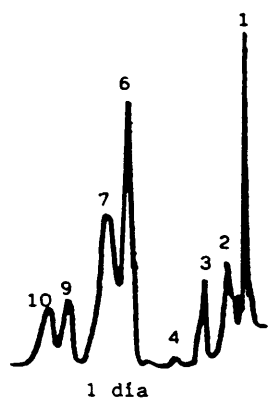


Fig. 34.- Curvas densitométricas de las proteínas miofibrilares de las muestras refrigeradas rápidamente (RRR), durante la conservación al estado refrigerado (1, 10, 22 días). Siendo: (1) Miosina, (2) Miosina C-proteínas, (3)  $\alpha$ -actinina, (4) 95.000 dalton, (5) 55.000 dalton, (6) Actina, (7) Troponina-T, (8) 30.000 dalton, (9) Miosina cadena ligera 1 y Troponina-I, (10) Troponina-C y Miosina Cadena ligera 2.

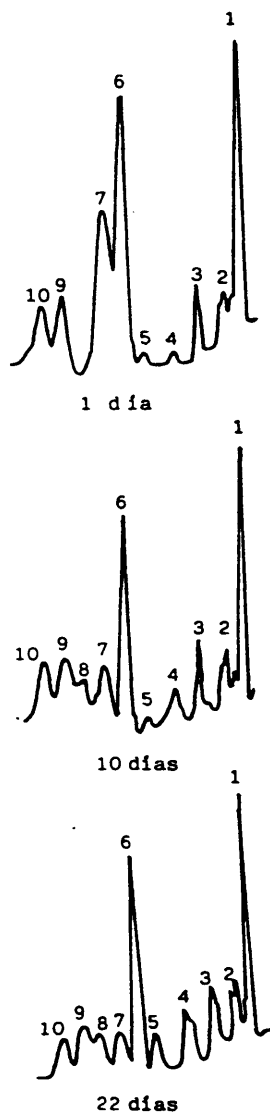


Fig. 35.- Curvas densitométricas de las proteínas miofibrilares de las muestras refrigeradas rápidamente y estimuladas eléctricamente (EER), durante la conservación al estado refrigerado 1, 10 y 22 días). Siendo: (1) Miosina, (2) M y C-proteínas, (3)  $\alpha$ -actinina, (4) 95.000 dalton, (5) 55.000 dalton, (6) Actina, (7) Troponina-T, (8) 30.000 dalton, (9) Miosina cadena ligera 1 y Troponina-I, (10) Troponina-C y Miosina cadena ligera 2.

Tabla XXIX.- Variación de la concentración relativa<sup>(1)</sup> de miosina, determinada por electroforesis en SDS, durante la conservación al estado refrigerado.

Muestras	Período de conservación (días)				
	1	6	10	14	22
MNR	1.05 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	1.03 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.96 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	0.94 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.85 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
RRR	1.02 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.97 <sub>2</sub> <sup>a,b</sup>	0.91 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.88 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	0.83 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
EER	1.07 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	1.04 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	1.01 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	0.90 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.86 <sub>1</sub> <sup>b</sup>

- (1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes de miosina y actina.
- (2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).
- (3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).



estos compuestos con la actina se incrementa a lo largo de la conservación, sin que ello dependa del tratamiento aplicado (Tablas XXX y XXXI). Arakawa y col.(1976) y Robbins y col.(1979), como con secuencia de la degradación de la miosina, observaron además la aparición de otros compuestos en torno a 150000 dalton, que no se han puesto de manifiesto en este estudio.

A lo largo del período de conservación, se observa un descenso en la relación entre la troponina-T y la actina, que se refleja en la tabla XXXII. No se han observado diferencias significativas en la degradación de la troponina-T debidas a los diferentes tratamientos realizados. Algunos autores han indicado que cuando se mantiene la carne a temperaturas entre 10-15°C con pH altos y baja concentración de iones calcio, la degradación de la troponina-T es menor (Yamamoto y col.,1979; Salm y col.,1983). Al no producirse estas condiciones en la carne estudiada en el presente trabajo, se justifica la mayor degradación de la troponina-T.

Existe a lo largo de la conservación un aumento en la relación entre el compuesto de 30000 dalton y la actina (Tabla XXXIII), que es debido a la degradación de la troponina-T, que como señalaron Olson y col.(1977), Penny (1980), Salm y col.(1983), Koohmaraie y col.(1984b) y Beltran y col.(1986), origina compuestos entre 28000 y 32000 dalton. Dicha relación depende de la velocidad de enfriamiento y del empleo de la estimulación eléctrica.

McBride y Parrish (1977), Penny y Dransfield (1979) y Buts y col.(1986), indicaron que la presencia del compuesto de 30000 dalton puede servir como índice de dureza de la carne, ya que ambos están inversamente relacionados. El mayor incremento de estos compuestos (con respecto a la suma del resto de los componentes proteicos), corresponde a la carne procedente de canales refrigeradas lentamente, que al sexto día de conservación alcanza niveles casi tres veces superiores a los de las muestras refrigeradas rápidamente no estimuladas (Tabla XXXIV). En base a la relación anteriormente indicada, la carne con mayor dureza debería ser la re-

Tabla XXX.- Variación de la concentración relativa<sup>(1)</sup> de los compuestos de 95000 dalton, determinados por electroforesis en SDS, durante la conservación al estado refrigerado.

Muestras	Período de conservación (días)				
	1	6	10	14	22
MNR	0.19 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.26 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	0.31 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.32 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.35 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
RRR	0.20 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.26 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.30 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	0.35 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	0.36 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
EER	0.18 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.24 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.25 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	0.34 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	0.35 <sub>1</sub> <sup>c</sup>

- (1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes de los compuestos de 95000 dalton y la actina.
- (2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).
- (3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla XXXI.- Variación de la concentración relativa<sup>(1)</sup> de los compuestos de 55000 dalton, determinados por electroforesis en SDS, a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

Muestras	Período de conservación (días)				
	1	6	10	14	22
MNR	0.11 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.13 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.18 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	0.20 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	0.28 <sub>1</sub> <sup>d</sup>
RRR	0.12 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.16 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.19 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.24 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.25 <sub>1</sub> <sup>b</sup>
EER	0.09 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.13 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.11 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.21 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.21 <sub>1</sub> <sup>b</sup>

- (1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes a los compuestos de 55000 dalton y la actina.
- (2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).
- (3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla XXXII.- Variación de la concentración relativa<sup>(1)</sup> de la troponina-T, determinada por electroforesis en SDS, a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

Muestras	Período de conservación (días)				
	1	6	10	14	22
MNR	0.95 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.89 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	0.85 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.77 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.71 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
RRR	0.95 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.97 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.90 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	0.85 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.79 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
EER	0.98 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.94 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	0.86 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.81 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	0.75 <sub>1</sub> <sup>c</sup>

- (1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes a la troponina-T y la actina.  
 (2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).  
 (3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla XXXIII.- Variación de la concentración relativa<sup>(1)</sup> de los compuestos de 30000 dalton, determinados por electroforesis en SDS, a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

Muestras	Período de conservación (días)				
	1	6	10	14	22
MNR	-	0.08 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.14 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	0.23 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.25 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
RRR	-	0.05 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	0.12 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	0.18 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	0.22 <sub>1</sub> <sup>b</sup>
EER	-	0.12 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.16 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.22 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.24 <sub>1</sub> <sup>b</sup>

- (1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes a los compuestos de 30000 dalton y la actina.  
 (2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).  
 (3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla XXXIV.- Variación de la concentración relativa<sup>(1)</sup> de los compuestos de 30000 dalton, determinados por electroforesis en SDS, a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

Muestras	Período de conservación (días)				
	1	6	10	14	22
MNR	-	1.59 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	2.05 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	2.94 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	3.13 <sub>1</sub> <sup>b</sup>
RRR	-	0.57 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	1.04 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	2.11 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	2.75 <sub>2</sub> <sup>b</sup>
EER	-	1.11 <sub>3</sub> <sup>a,b</sup>	1.79 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	2.79 <sub>1</sub> <sup>c,d</sup>	3.20 <sub>1</sub> <sup>d</sup>

- (1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes a los compuestos de 30000 dalton y al total de las proteínas miofibrilares, por cien.
- (2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).
- (3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

frigerada rápidamente no estimulada, hecho que efectivamente ocurre como se observa al analizar las tablas XXXVII y XXXIX. La aplicación de la estimulación eléctrica provoca una mayor formación de estos compuestos (Tabla XXXIV). Dutson y col. (1980) y Salm y col. (1983), indicaron que la menor dureza en la carne procedente de canales estimuladas no se debe tan sólo por evitar la aparición del acortamiento muscular por frío, sino que también puede ser debido por el aumento de la actividad proteolítica que da lugar a la formación de compuestos de 30000 dalton. Sin embargo, Yates y col. (1983) y Koohmaraie y col. (1984b), a pesar de observar que la mayor degradación de la troponina-T y la consiguiente formación del compuesto de 30000 dalton tenía lugar cuando los músculos se mantenían a 37°C de temperatura y a pH 5.4, sugieren que la dureza de la carne depende fundamentalmente de la degradación de la miosina que también es máxima en estas condiciones.

A la vista de los resultados se puede concluir que, en las condiciones ensayadas, el empleo de velocidades de refrigeración lentas y la aplicación de la estimulación eléctrica tienen efectos análogos, a lo largo del período de conservación, sobre la degradación que experimenta la miosina y la troponina-T y sobre la formación de compuestos de 55000 y 95000 dalton.

Las modificaciones de las proteínas miofibrilares son debidas fundamentalmente a la acción del Factor Activado por el Calcio (CAF) (Olson y col., 1977; Penny, 1980; Matsukura y col., 1981), de las catepsinas B y D (Schwartz y Bird, 1977; Penny y Ferguson-Price, 1979), así como de otras proteasas (Penny, 1980).

#### IV.2.2.3.- Estudio del color determinado por métodos objetivos.

La determinación del color a lo largo del período de conservación al estado refrigerado, que se llevó a cabo en un colorímetro triestímulo para medir cuerpos opacos Hunter Lab, se refleja en la tabla XXXV.

Tabla XXXV.- Determinación objetiva del color de la carne, por medio de un colorímetro Hunter Lab , a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

Muestras	Parámetros	Período de conservación (días)				
		0 <sup>(1)</sup>	1	3	7	15
MNR	L	37.83 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	37.12 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	37.20 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	36.41 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	33.33 <sub>1</sub> <sup>b</sup>
	a	9.73 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	9.34 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	10.94 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	12.47 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	14.82 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
	b	7.27 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	7.13 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	7.98 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	9.62 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	11.76 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
	a/b	1.34 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	1.31 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	1.37 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	1.29 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	1.26 <sub>1</sub> <sup>b</sup>
RRR	L	36.91 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	36.34 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	35.87 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	36.25 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	33.87 <sub>1</sub> <sup>b</sup>
	a	10.78 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	11.12 <sub>1,2</sub> <sup>a</sup>	10.85 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	13.20 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	15.19 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
	b	7.61 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	7.25 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	7.77 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	10.24 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	12.38 <sub>1,2</sub> <sup>c</sup>
	a/b	1.41 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	1.53 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	1.39 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	1.28 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	1.22 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
EER	L	40.26 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	39.75 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	36.76 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	37.24 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	31.68 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
	a	12.17 <sub>2</sub> <sup>a,b</sup>	11.86 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	11.69 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	13.43 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	14.60 <sub>1</sub> <sup>c</sup>
	b	7.70 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	7.77 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	8.13 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	10.96 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	12.72 <sub>2</sub> <sup>c</sup>
	a/b	1.58 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	1.52 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	1.43 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	1.22 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	1.14 <sub>2</sub> <sup>d</sup>

(1) Control realizado a las 4 horas post-mortem.

(2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.01$ ).

(3) Números distintos para cada uno de los parámetros L, a, b de una misma columna, indican diferencias significativas ( $P < 0.01$ ).

Inicialmente, los niveles de luminosidad (L) son mayores en las muestras estimuladas, debido a que el rápido descenso de pH provocado por el estímulo eléctrico da lugar a una menor capacidad de retención de agua (Tabla XXVIII) y a la liberación de agua en la superficie de la carne y por consiguiente la aparición de un color más brillante (Pearson y Dutson, 1985). Algunos autores, mediante la determinación del color por métodos subjetivos, también han señalado la aparición de coloraciones más brillantes en las canales estimuladas eléctricamente (Smith y col., 1979; Savell y col. 1979).

A lo largo del período estudiado, se observa un descenso del parámetro L en todas las muestras (Tabla XXXV); esta pérdida de luminosidad va a depender del tratamiento aplicado, y es mayor en la carne estimulada, de manera que al final del período de conservación es dos veces superior a la de las otras muestras (Tabla XXXVI). La disminución del valor L también ha sido descrita por Ledward (1985) y García-Matamoros y col. (1985) con empleo de métodos objetivos en la determinación del color y por otros autores mediante el empleo de métodos subjetivos, a través de jurados de evaluación del color (Riley y col., 1980; Salm y col., 1981). A partir de las 72 horas p.m. no se observan diferencias significativas en la luminosidad de la carne entre los distintos tratamientos.

A lo largo del período de conservación se observa un aumento del parámetro a (tonalidad roja) en todas las muestras (Tabla XXXV), si bien éste es más acusado en las muestras no estimuladas (MNR y RRR), que al final del período de conservación llegan a ser entre dos y tres veces superiores al observado en la muestra EER (Tabla XXXVI). Durante las primeras 24 horas, este parámetro alcanza valores significativamente más elevados ( $P < 0.01$ ) en las muestras estimuladas, que pueden ser debidos al elevado porcentaje de oximioglobina presente en la muestra (Tang y Henrickson, 1980). La formación de oximioglobina está relacionada con el rápido descenso de pH que tiene lugar en las muestras estimuladas cuando la temperatura es aún elevada y que provoca la inhibición de la

Tabla XXXVI.- Variación porcentual de los parámetros L, a y b al final del período de conservación estudiado. <sup>(1)</sup>

Parámetros	Muestras		
	MNR	RRR	EER
L	-12	-8	-22
a	52	41	19
b	61	62.7	65

(1) Los valores porcentuales se obtienen de la siguiente manera:

$$\frac{\text{valor a los 15 días} - \text{valor inicial}}{\text{valor inicial}} \times 100$$

(2) Valores negativos indican pérdidas y positivos incrementos.



actividad respiratoria de las mitocondrias y la consiguiente oxigenación de la mioglobina, dando lugar a la formación de oximioglobina de color rojo brillante (Nichols y Cross, 1980). La mayor tonalidad rojiza de la carne procedente de canales estimuladas durante las 24-48 horas p.m., también ha sido descrita por otros autores (Orcutt y col., 1984; Ledward y col., 1986). A partir de las 24 horas de conservación no se han encontrado diferencias significativas ni por el empleo de velocidades de refrigeración distintas ni por la aplicación de la estimulación eléctrica.

Los valores del parámetro b (tonalidad amarilla) aumentan a lo largo del período de conservación, no encontrándose diferencias significativas ni por el empleo de diferentes velocidades de refrigeración, ni por la utilización de la estimulación eléctrica (Tablas XXXV y XXXVI).

Contreras y Harrison (1981) establecieron una relación entre los parámetros a y b (a/b), indicando que su disminución estaba relacionada con la oxidación de la mioglobina y/o oximioglobina a metamioglobina. Esta oxidación se lleva a cabo por el aumento de acidez y la reducción de la presión de  $O_2$  producido durante la glucólisis post-mortem (Rosset y Liger, 1981; Smith, 1985). Durante el período de conservación se observa un descenso de estos valores, que es más acusado en las muestras estimuladas (Tabla XXXV), debido a la mayor formación de oximioglobina (mayores niveles del parámetro a), producida durante las 24 horas p.m. Este comportamiento ha sido similar al señalado por Contreras y Harrison (1981) en carne de vacuno. La mayor formación de metamioglobina a partir de las 48 horas p.m. en muestras procedentes de canales estimuladas ha sido descrita por Ledward y col. (1986).

A través de los resultados obtenidos se observa que el efecto de la estimulación eléctrica sobre el color de la carne sólo se aprecia durante las primeras horas post-mortem, ya que a medida que avanza la conservación, los parámetros que lo determinan se van igualando, de manera que a partir de las 72 horas, no exis-

te diferencia alguna, hecho que también ha sido sugerido por Calkins y col.(1980) y Asghar y Pearson (1980). Esta puede ser la razón de por que algunos autores, tanto al emplear métodos objetivos como subjetivos no han logrado establecer diferencias en el color de la carne por efecto de la estimulación eléctrica (Strickland y col.,1979; Nichols y Cross, 1980; Rashid y col.,1983).

#### IV.2.2.4.- Análisis instrumental de textura.

La determinación de la resistencia al corte, medida en la célula de Kramer, durante la conservación de la carne al estado refrigerado, se refleja en la tabla XXXVII.

Inicialmente la carne presenta niveles de resistencia al corte similares en todas las muestras, a pesar de la influencia que las distintas velocidades de enfriamiento y la aplicación de la estimulación eléctrica han tenido sobre el momento de la instalación del rigor mortis (Tabla XXVI y Fig.23).

La resistencia al corte desciende a medida que avanza la conservación, como consecuencia del proceso de maduración, si bien su grado depende del tratamiento aplicado, de manera que es menor en la carne procedente de canales refrigeradas rápidamente sin estimular (Tabla XXXVIII), como consecuencia de la incidencia del acortamiento muscular por frío (Tabla XXVI y Fig.23). A través de estos resultados se demuestra que, a pesar de que algunos autores han señalado la irreversibilidad del endurecimiento que experimenta el músculo cuando tiene lugar dicho fenómeno (Herring y col., 1967; Locker y col.,1975; Davey y col.,1976), éste es parcialmente reversible, ya que se alcanzan disminuciones de la resistencia al corte en torno al 32% (Tabla XXXVIII) que evidentemente son muy inferiores a las que tienen lugar en la carne que no presenta esta alteración (MNR y EER) y que llegan a ser de hasta el 63% de los valores iniciales (Tabla XXXVIII). Este grado de reversibilidad de la carne con procesos de acortamiento muscular por frío, durante su conservación al estado refrigerado, también ha sido señalada

Tabla XXXVII.- Determinación de la resistencia al corte de la carne, medida en la célula de Kramer, durante la conservación al estado refrigerado.

Muestras	Período de conservación (días)			
	1	4	8	12
MNR	22.76 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	13.18 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	9.54 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	8.33 <sup>c</sup> <sub>1</sub>
RRR	23.13 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	21.42 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	18.47 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	15.53 <sup>c</sup> <sub>2</sub>
EER	23.01 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	16.63 <sup>b</sup> <sub>3</sub>	11.17 <sup>c</sup> <sub>3</sub>	9.46 <sup>c</sup> <sub>1</sub>

(1) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(2) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

por diversos autores (Newbold y Harris, 1972; Bouton y col., 1973; Moral y col., 1984; Locker y Wild, 1984). Los resultados de la resistencia al corte, medida en la célula de Kramer, son similares a los observados al analizar el efecto de los distintos estimuladores cuando las condiciones de experimentación son semejantes (Tablas XII, XIII y XIV).

Al estudiar el efecto de los distintos estimuladores sobre las características de la carne, se estableció una relación entre la variación del pH por efecto de la estimulación eléctrica ( $\Delta$  pH) con el incremento de dureza ( $\Delta$  dureza) ( $\Delta$  dureza =  $192.8 - 106.4 \Delta$  pH). El  $\Delta$  dureza teórico obtenido con la aplicación de esta ecuación para el  $\Delta$  pH de 0.72 producido con la aplicación de la estimulación eléctrica es de 116.2, mientras que el valor experimental es 113.5 (Tabla XXXVIII). Estos resultados dan idea, en las condiciones ensayadas, de la validez de dicha relación para predecir la incidencia de la estimulación eléctrica sobre la textura de la carne, a través de su efecto sobre el descenso del pH ( $\Delta$  pH). Como ya quedó indicado en el apartado IV.1.2, cuando este  $\Delta$  pH es superior a 0.4, no tiene lugar el acortamiento muscular por frío en las canales sometidas a velocidades de refrigeración rápidas (Tabla XIV); es por ello que la carne procedente de canales estimuladas exhibe menores índices de resistencia al corte que la carne refrigerada rápidamente no estimulada (Tabla XXXVII y XXXVIII).

Varios autores han indicado que el efecto de la estimulación eléctrica sobre la dureza de la carne no se debe tan sólo por evitar el acortamiento muscular por frío, sino que también puede estar relacionada con un aumento en el compuesto de 30000 dalton (Dutson y col., 1980; Salm y col., 1983). Se observa en este trabajo un aumento de estos compuestos a lo largo del período de conservación (Tabla XXXIV), siendo más acusado en las muestras refrigeradas lentamente y en las refrigeradas rápidamente estimuladas, coincidiendo con valores más bajos de la resistencia al corte medida en la célula de Kramer (Tablas XXXIV y XXXVII).

Tabla XXXVIII.- Relación entre  $\Delta \text{pH}^{(1)}$ , el grado de ablandamiento ( $\Delta$  blandura)<sup>(2)</sup> y el aumento porcentual de la resistencia al corte ( $\Delta$  dureza)<sup>(3)</sup>, que experimenta la carne a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

Muestras	$\Delta \text{pH}$	$\Delta$ blandura	$\Delta$ dureza
MNR	0	63.40	100.00
RRR	0	32.85	186.52
EER	0.72	58.88	113.56

(1)  $\Delta \text{pH} = \text{pH}$  antes de la estimulación -  $\text{pH}$  después de la estimulación.

(2)  $\Delta$  blandura =  $100 - \frac{\text{Dureza al final período conservación}}{\text{Dureza máxima deseada}} \times 100$

(3)  $\Delta$  dureza =  $\frac{\text{Dureza al final período conservación(RRR y EER)}}{\text{Dureza al final período conservación (MNR)}} \times 100$

#### IV.2.2.5.- Análisis sensorial.

La determinación de la dureza y la aceptabilidad general mediante el jurado de degustación se reflejan en la tabla XXXIX.

Inicialmente, como se ha indicado en el apartado IV.2.2.4 la carne se encuentra en estado de rigor y por ello presenta niveles similares de dureza en todas las muestras. La disminución de la dureza durante la conservación depende del tratamiento aplicado, siendo más acusada en las muestras refrigeradas lentamente y las refrigeradas rápidamente estimuladas, como se ha observado anteriormente al analizar la resistencia al corte medida en la célula de Kramer (Tabla XXXVII). El mayor índice de dureza manifestado por las muestras refrigeradas rápidamente está relacionado con la aparición en estas muestras del acortamiento muscular por frío (Tablas XXVI, XXVII y XXXVII).

La aceptabilidad general, que inicialmente es de regular, aumenta a medida que avanza la conservación, estando inversamente relacionada con la variación de la dureza, que parece ser el factor que fundamentalmente condiciona la valoración de este parámetro. La menor aceptabilidad la presentan, por tanto, las muestras refrigeradas rápidamente no estimuladas, mientras que los niveles de aceptación de las otras dos muestras son superiores a las anteriores y similares entre sí.

Tabla XXXIX.- Determinación de la dureza y la aceptabilidad general de la carne, por medio de un jurado de degustación, a lo largo de la conservación al estado refrigerado.

Análisis	Muestras	Período de conservación (días)			
		1	4	8	12
Dureza (1)	MNR	5.8	4.6	4.0	3.6
	RRR	5.4	5.6	5.2	4.8
	EER	5.6	5.0	4.4	4.0
Aceptabilidad general (2)	MNR	3.2	5.0	5.6	5.8
	RRR	3.6	3.2	4.0	4.6
	EER	3.2	3.8	4.9	5.6

(1) La escala empleada es: 1 = muy blanda; 7 = muy dura.

(2) La escala empleada es: 1 = muy mala; 7 = muy buena.

#### IV.3.- CONGELACION Y CONSERVACION AL ESTADO CONGELADO

El efecto de la estimulación eléctrica sobre las características de la carne durante la congelación y conservación al estado congelado, que se ha realizado de la manera descrita anteriormente y que se refleja en la figura 15, se ha llevado a cabo a través de la determinación, durante los doce meses de conservación, de los siguientes parámetros: pérdidas de peso, análisis microbiológicos, índice del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA), estudio de las modificaciones de las proteínas, capacidad de retención de agua, medida del color por procedimientos objetivos, análisis instrumental de textura y análisis sensorial.

##### IV.3.1.- Estudio de las pérdidas de peso durante la congelación, conservación al estado congelado y descongelación.

Las pérdidas de peso habidas durante la congelación, conservación al estado congelado y descongelación se recogen en las tablas XL y XLI. Estas pérdidas de peso se deben principalmente a pérdidas de agua en forma de vapor durante la congelación y conservación al estado congelado y en forma de líquido durante la descongelación.

Las muestras MNC se refrigeraron y conservaron al estado refrigerado ( $2^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ , HR 80-85% y velocidad del aire 0.5 m/s), durante 48 horas antes de realizar la congelación (canales en post-rigor). Durante este período estas muestras tuvieron pérdidas de peso por evaporación de 1.42%.

Durante la congelación de las canales RRR y EEC, a las cuatro horas post-mortem, se observan pérdidas de peso en torno al 1.80%, que son superiores a las determinadas en las canales congeladas en estado de post-rigor (MNC). Sin embargo, en éstas, las pérdidas de peso habidas hasta el inicio de la conservación



Tabla XL.- Pérdidas de peso durante la congelación y conservación al estado congelado, expresadas en tanto por ciento.

Muestras	Congelación <sup>(1)</sup>	Período de conservación (meses)										
		1	2	3	4	5	6	9	12			
MNC	2.75 <sup>(2)</sup> <sub>1</sub>	0.17 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.32 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.53 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	0.81 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	0.86 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	1.11 <sup>e</sup> <sub>1</sub>	2.12 <sup>f</sup> <sub>1</sub>	2.71 <sup>g</sup> <sub>1</sub>			
RRC	1.79 <sub>2</sub>	0.09 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	0.41 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.69 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	0.72 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	1.01 <sup>d</sup> <sub>2</sub>	1.23 <sup>d</sup> <sub>2</sub>	2.03 <sup>e</sup> <sub>1</sub>	2.59 <sup>f</sup> <sub>1</sub>			
EEC	1.82 <sub>2</sub>	0.14 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.36 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.47 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.79 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	0.94 <sup>d,e</sup> <sub>1,2</sub>	1.17 <sup>e</sup> <sub>1,2</sub>	2.01 <sup>f</sup> <sub>1</sub>	2.69 <sup>g</sup> <sub>1</sub>			

164

(1) Estos valores son media de nueve canales.

(2) Este valor es la suma de las pérdidas durante la refrigeración previa 1.42% y las pérdidas durante la congelación 1.33%.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(4) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla XLI.- Pérdidas de peso durante la descongelación, expresadas en tanto por ciento.

Muestras	Período de conservación (meses)								
	0	1	2	3	4	5	6	9	12
MNC	1.31 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.52 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.23 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.77 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	1.97 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	1.28 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.64 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.59 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.73 <sup>b</sup> <sub>1</sub>
RRC	4.02 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	3.64 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	3.42 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	3.60 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	3.25 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	2.53 <sup>d</sup> <sub>2</sub>	2.47 <sup>d</sup> <sub>2</sub>	1.76 <sup>e</sup> <sub>1</sub>	1.54 <sup>e</sup> <sub>1</sub>
EEC	1.41 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.27 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.63 <sup>a,d</sup> <sub>1</sub>	1.86 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	1.82 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	2.01 <sup>c</sup> <sub>3</sub>	1.73 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	1.72 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	1.61 <sup>a,d</sup> <sub>1</sub>

(1) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(2) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

al estado congelado son superiores, debido al tratamiento previo a que se le somete. Las pérdidas de peso en las muestras MNC son de 2.67% (pérdidas de peso durante la refrigeración mas las pérdidas durante la congelación), aproximadamente un 35% superior a las determinadas en las muestras congeladas a las 4 horas post-mortem (RRC y EEC). En cualquier caso las pérdidas de peso por efecto de la congelación se encuentran dentro de los límites considerados como admisibles por el Instituto Internacional del Frío (1972). No se han observado diferencias significativas en los valores de este parámetro durante la congelación de las canales RRC y EEC, no habiéndose detectado ninguna influencia de la estimulación eléctrica sobre este parámetro (Tabla XL).

En las condiciones ensayadas, las pérdidas de peso durante la conservación al estado congelado, son similares en los tres tratamientos realizados y son tanto más importantes cuanto mayor sea el período de conservación, coincidiendo con lo señalado por el Instituto Internacional del Frío (1972).

Durante el proceso de descongelación, las muestras congeladas en estado de pre-rigor (RRC) manifiestan pérdidas de peso superiores a las encontradas en el resto de las muestras durante los seis primeros meses de conservación al estado congelado, que llegan a ser de dos a tres veces superiores durante los tres meses iniciales, no siendo significativamente diferentes a partir de ese momento (Tabla XLI). La mayor pérdida de peso en las muestras RRC se explica porque las canales congeladas en estado de pre-rigor experimentan, en el momento de la descongelación, fenómenos importantes de exudación debido a que tiene lugar un proceso con fuertes contracciones, denominado rigor de la descongelación. Este fenómeno se desarrolla cuando la concentración de ATP en la carne es superior a 0.3  $\mu$ M de ATP por gramo de muestra (Davey y Gilbert, 1976) e incluso tendría lugar a concentraciones más bajas según otros autores (Bendall, 1980; Monin, 1980).

Las canales congeladas a las cuatro horas post-mortem

tienen un pH de 6.25 en las muestras RRC o de 5.77 en las muestras EEC, mientras que en las canales que dicho tratamiento se aplica a las 48 horas post-mortem es de 5.74. Estos valores son similares a los encontrados durante el estudio de la refrigeración y conservación al estado refrigerado (Tabla XXVI) y que según la relación establecida previamente entre el pH y los niveles de ATP ( $\mu\text{M ATP/g} = -25.93 + 4.508 \text{ pH}$ ), éstos serían de  $2.25 \mu\text{M ATP/g}$  en la muestra RRC, mientras que este compuesto se habría degradado totalmente en las otras dos muestras. Por tanto, en las canales congeladas en pre-rigor (RRC) se dan las condiciones para que tenga lugar el rigor de la descongelación. Las pérdidas de peso observadas durante este proceso son considerablemente inferiores a las descritas por Locker y col., (1975) debido a que estos autores emplearon temperaturas de descongelación de  $16-20^\circ\text{C}$ , superiores a las utilizadas en este estudio ( $3^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ ). La distinta velocidad de descongelación puede conducir a distintos grados de rigor de la descongelación, originando como consecuencia las diferencias señaladas. A medida que avanza la conservación dichas pérdidas de peso van disminuyendo, ya que se va produciendo una paulatina degradación del ATP que a  $-18^\circ\text{C}$  es posible (Rosset y Roussell-Ciquard, 1980; Locker, 1985), debido a que la ATPasa miofibrilar se inactivaría a temperaturas inferiores a  $-20^\circ\text{C}$  (Wagner y Añón, 1986). El descenso de los niveles de ATP disminuye el efecto del rigor de la descongelación, de manera que a los nueve meses de conservación es tal que dicho fenómeno no tiene lugar (Tabla XLI).

#### IV.3.2.- Análisis microbiológico.

El recuento de gérmenes viables durante la congelación y conservación al estado congelado se refleja en la tabla XLII. Los niveles iniciales de contaminación están directamente relacionados con el período transcurrido entre el sacrificio y el momento de la congelación (MNC-48 horas, RRC y EEC-4 horas). No se han encontrado diferencias significativas entre las distintas muestras congeladas a las 4 horas post-mortem, lo que indica la escasa incidencia de la estimulación eléctrica sobre el desarrollo de microorganismos.

Tabla XLII.- Recuento de gérmenes viables durante la congelación y la conservación al estado congelado, expresados como log. n.º gérmenes/g de muestra.

Muestras	F(1)	Período de conservación (meses)										
		O(2)										
		1	2	3	4	5	6	9	12			
MNC	4.01 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	3.73 <sup>b,d</sup> <sub>1</sub>	3.81 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3.80 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3.60 <sup>c,e</sup> <sub>1</sub>	3.69 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	3.62 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	3.52 <sup>e</sup> <sub>1</sub>	3.49 <sup>e</sup> <sub>1</sub>	3.36 <sup>f</sup> <sub>1</sub>		
HRC	3.78 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	3.54 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	3.49 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	3.56 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	3.57 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	3.47 <sup>c,e</sup> <sub>2</sub>	3.23 <sup>d,e</sup> <sub>2</sub>	3.32 <sup>e</sup> <sub>2</sub>	3.18 <sup>d</sup> <sub>2</sub>	3.22 <sup>d</sup> <sub>2</sub>		
EEC	3.83 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	3.49 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	3.48 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	3.42 <sup>b</sup> <sub>3</sub>	3.53 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	3.23 <sup>d</sup> <sub>3</sub>	3.18 <sup>d</sup> <sub>2</sub>	3.20 <sup>d</sup> <sub>3</sub>	3.11 <sup>e</sup> <sub>2</sub>	3.14 <sup>e</sup> <sub>2</sub>		

168

(1) Control determinado inmediatamente antes de realizarse la congelación.

(2) Control determinado a las 72 horas de realizarse la congelación.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(4) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

mos.

Por efecto de la congelación se observa un descenso de los gérmenes viables en todas las muestras, aunque menos pronunciado que el descrito por Partmann (1975). Este fenómeno se explicaría al haberse realizado en este trabajo la determinación de gérmenes viables sobre el producto descongelado (36 horas a  $3^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), mientras que Partmann lo llevó a cabo sobre el producto sin descongelar.

A lo largo del período de conservación se observa un ligero descenso en el número de gérmenes viables en todas las muestras, aunque en menor medida que lo descrito por Christophersen (1968) y Schmidt-Lorenz y Gutschmidt (1969), aunque estos autores conservaron la carne a temperaturas inferiores ( $-30^{\circ}\text{C}$ ) a las utilizadas en este trabajo ( $-18^{\circ}\text{C}$ ). Partmann (1975) indicó que esta disminución del número de gérmenes viables tanto durante la congelación como en la conservación al estado congelado era debida al descenso de las bacterias Gram<sup>-</sup> de un 85% a un 30%. Crivelly y col. (1972) y Maleszewski (1973) señalaron que la disminución del número de microorganismos durante la conservación al estado congelado, independientemente de otro tipo de factores como la velocidad de congelación, naturaleza del producto, etc., es tanto mayor cuanto más largo sea el período de conservación y menor sea la temperatura de conservación.

Los niveles de contaminación determinados al final del período de conservación están directamente relacionados con la contaminación inicial. Así se observa mayor número de microorganismos en las muestras congeladas a las 48 horas post-mortem que en las congeladas a las 4 horas post-mortem, no existiendo entre éstas diferencias significativas, lo que indica la escasa incidencia de la estimulación eléctrica durante la congelación y conservación al estado congelado.

En todos los tratamientos realizados el número de gérme

nes viables es inferior al señalado en las recomendaciones del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición (1982), lo que indica el perfecto estado sanitario de todas las muestras.

#### IV.3.3.- Índice del ácido 2-tiobarbitúrico (TBA).

Los resultados de la evaluación de la rancidez autooxidativa medida a través del índice del ácido 2-tiobarbitúrico, se recogen en la tabla XLIII.

Los niveles iniciales de TBA son similares en las tres muestras y aumentan a lo largo del período de conservación (Sebra- nek y col.,1978; Jeremiah,1980), sin que se hayan observado diferencias significativas ni por el distinto estado bioquímico de las muestras en el momento de la congelación (pre o post-rigor), ni por la aplicación de la estimulación eléctrica. Sin embargo, algunos autores han encontrado que en carne de cerdo el estado bioquímico del músculo condiciona el grado de oxidación de los lípidos (Judge y Aberle,1980; Tay y col.,1983). El ligero aumento del aldehído malónico sugiere que la oxidación de los lípidos se encuentra en el período de inducción (Fig.36), donde aún no aparece la detección organoléptica de la rancidez (Labuza,1971) como efectiva- mente se verá al analizar los resultados del análisis sensorial. No obstante, a menudo se ha puesto de manifiesto la falta de correlación entre los índices químicos de oxidación de lípidos y su determinación organoléptica (Jackson,1981; Williams y col.,1983).

Así pues, independientemente del tratamiento realizado, la carne de cordero después de doce meses de conservación al estado congelado, no presenta niveles de rancidez que pudieran hacer rechazable el producto.

#### IV.3.4.- Modificaciones en las características de las proteínas.

Los diferentes cambios habidos en las proteínas durante

Tabla XLIII.- Evolución del ácido 2-tiobarbitúrico (expresado como  $\mu$ M de malonaldehído/100g de muestra), durante la conservación al estado congelado.

Muestras	Período de conservación (meses)								
	0 <sup>(1)</sup>	1	2	3	4	5	6	9	12
MNC	0.51 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.50 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.50 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.45 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.60 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.56 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	0.60 <sub>1</sub> <sup>b,c</sup>	0.67 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	0.80 <sub>1</sub> <sup>d</sup>
RRC	0.60 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.59 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	0.52 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.55 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.55 <sub>1,2</sub> <sup>b</sup>	0.57 <sub>1</sub> <sup>a,b</sup>	0.61 <sub>1</sub> <sup>a</sup>	0.73 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	0.92 <sub>1,2</sub> <sup>d</sup>
EEC	-	-	0.40 <sub>2</sub> <sup>a</sup>	0.51 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.49 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	0.49 <sub>1</sub> <sup>b</sup>	0.50 <sub>2</sub> <sup>b</sup>	0.73 <sub>1</sub> <sup>c</sup>	0.94 <sub>2</sub> <sup>d</sup>

(1) Control determinado a las 72 horas de realizarse la congelación.

(2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).



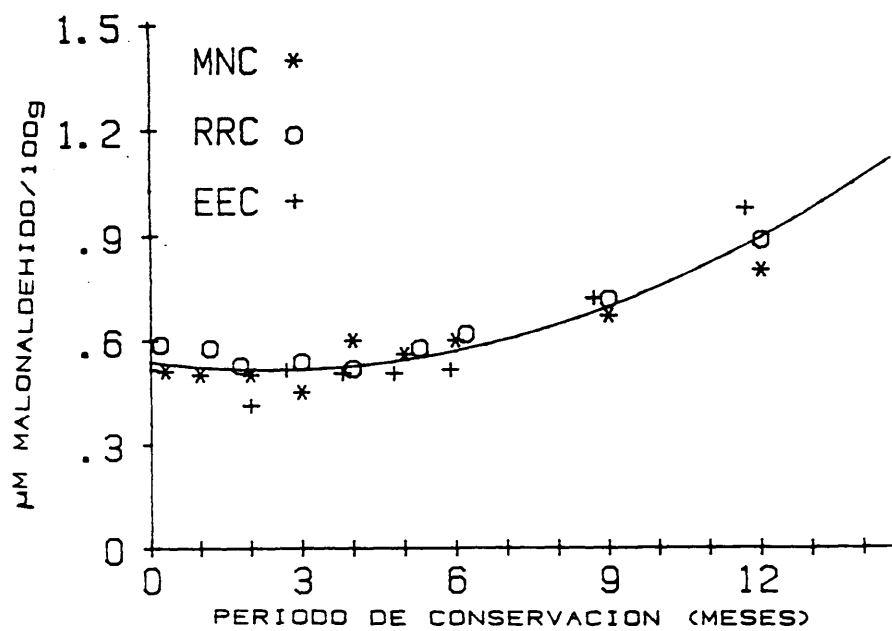


Fig. 36.- Evolución del contenido de Malonaldehído en el músculo (índice del TBA), durante la conservación al estado congelado.

la congelación y conservación al estado congelado se han estudiado mediante la modificación de su solubilidad y el estudio de las proteínas miofibrilares en electroforesis en gel de poliacrilamida en dodecil sulfato sódico (PAGE-SDS).

#### IV.3.4.1.- Estudio de la solubilidad proteica.

Las modificaciones de la solubilidad proteica durante la congelación y conservación al estado congelado, para las diferentes muestras estudiadas se reflejan en la tabla XLIV. Los índices de solubilidad proteica antes de realizarse la congelación son independientes del estado bioquímico en que se encuentra el músculo y de la aplicación de la estimulación eléctrica, no encontrándose diferencias significativas entre las distintas muestras. No obstante, diversos autores han determinado mayores índices de solubilidad proteica en los músculos en estado de pre-rigor (Hamm y Grabowska, 1980; Hamm, 1981; Honikel y col., 1981).

No se han detectado diferencias significativas en la solubilidad proteica de las distintas muestras por efecto de la congelación (Tabla XLIV), comportamientos similares han sido descritos por Wagner y Añón (1985).

Durante el período de conservación al estado congelado se ha encontrado una pérdida de solubilidad similar en todas las muestras, independientemente del tratamiento aplicado (Tabla XLIV), coincidiendo con los comportamientos descritos por Rosset y col. (1974) y Matsumoto (1980). En esta pérdida de solubilidad se pueden distinguir dos fases (Fig.37): en la primera, que tendría lugar durante los dos primeros meses de conservación, la solubilidad permanecería casi constante, ya que sólo tienen lugar fenómenos de desnaturalización, que se manifiestan por un fuerte descenso de la actividad ATPásica (Wagner y Añón, 1985), mientras que en la segunda, a partir del segundo mes de conservación y hasta el final de la misma, se observa un descenso paulatino en la solubilidad proteica debido a que la proteína ya desnaturalizada puede experimen-

Tabla XLIV.- Comportamiento de la solubilidad proteica (expresada en porcentaje), durante la congelación y conservación al estado congelado.

Muestras	F <sup>(1)</sup>	Período de conservación (meses)										
		0 <sup>(2)</sup>										
		1	2	3	4	5	6	9	12			
MNC	47.08 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	46.37 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	46.80 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	51.81 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	46.61 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	46.52 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	44.97 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	42.65 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	38.07 <sup>d,e</sup> <sub>1</sub>	35.36 <sup>e</sup> <sub>1</sub>		
RRC	47.60 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	46.88 <sup>a,c</sup> <sub>1</sub>	50.73 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	49.64 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	44.45 <sup>c,d</sup> <sub>1,2</sub>	44.64 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	42.24 <sup>d,e</sup> <sub>1</sub>	38.99 <sup>e</sup> <sub>2</sub>	34.34 <sup>f</sup> <sub>2</sub>	33.43 <sup>f</sup> <sub>2</sub>		
EEC	47.31 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	45.65 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	48.36 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	46.28 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	43.21 <sup>c,d</sup> <sub>2</sub>	47.16 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	44.90 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	41.20 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	39.52 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	35.03 <sup>e</sup> <sub>1</sub>		

(1) Control determinado inmediatamente antes de realizarse la congelación.

(2) Control determinado a las 72 horas después de realizarse la congelación.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0.05).

(4) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas (P < 0.05).

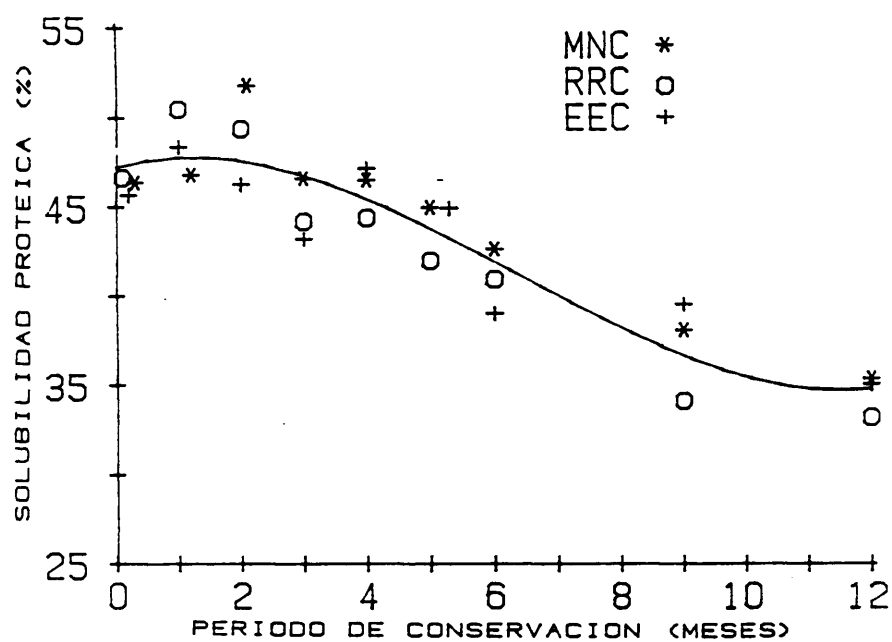


Fig. 37.- Evolución de la solubilidad protéica durante la conservación al estado congelado.

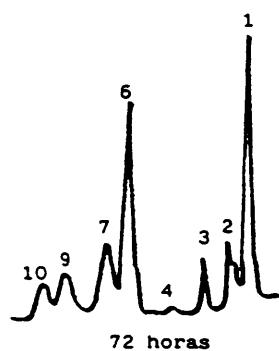
tar fenómenos de agregación (Wagner y Añon, 1985). Estas diferentes fases de pérdida de solubilidad proteica durante la conservación al estado congelado han sido descritas por Wagner y Añon (1986) en carne de vacuno estudiando miofibrillas. La pérdida de solubilidad es mayor cuanto más elevada sea la temperatura de conservación al estado congelado.

Así pues, durante la congelación y conservación al estado congelado no se han apreciado diferencias significativas en la pérdida de solubilidad proteica por el distinto estado bioquímico del músculo en el momento de la congelación pre-rigor o post-rigor ni por el empleo de la estimulación eléctrica. A pesar de que en las muestras congeladas en estado de pre-rigor (RRC) se ha observado el rigor de la descongelación, mayores pérdidas de peso durante la descongelación (Tabla XLI), no se ha podido determinar que las fuertes contracciones producidas durante el desarrollo de este proceso tengan influencia sobre la solubilidad proteica.

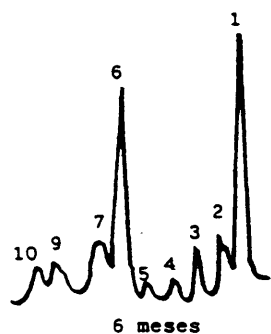
#### IV.3.4.2.- Estudio de las proteínas miofibrilares.

El estudio de las proteínas miofibrilares se realizó mediante electroforesis en dodecil sulfato sódico (SDS). En las figuras 38, 39 y 40 se representan de manera gráfica y a modo de ejemplo las curvas densitométricas de las proteínas miofibrilares durante distintas etapas del período de conservación al estado congelado. En las tablas XLV, XLVI, XLVII y XLVIII se muestran las variaciones que experimentan diferentes compuestos proteicos durante la congelación y conservación al estado congelado con respecto de la actina que se considera como constante (Rosset y col., 1974; Bechtel y Parrish, 1983; Wagner y Añon, 1986). Las modificaciones de la miosina, troponina-T, compuestos de 30000, 55000 y 95000 dalton se evalúan, por tanto, mediante la variación que experimenta la relación entre las áreas de dichos compuestos y la actina.

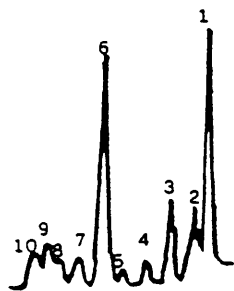
No se han observado diferencias significativas en la variación relativa de la miosina debido al diferente estado bioquímico



72 horas



6 meses



12 meses

Fig. 38.- Curvas densitométricas de las proteínas miofibrilares de las muestras congeladas a las 48 h post-mortem (MNC), durante la conservación al estado congelado (72h, 6 y 12 meses). Siendo: (1) Miosina, (2) M y C-proteínas, (3)  $\alpha$ -actinina, (4) 95.000 dalton, (5) 55.000 dalton, (6) Actina, (7) Troponina-T, (8) 30.000 dalton, (9) Miosina cadena ligera 1 y Troponina-I, (10) Troponina-C y Miosina cadena ligera 2.

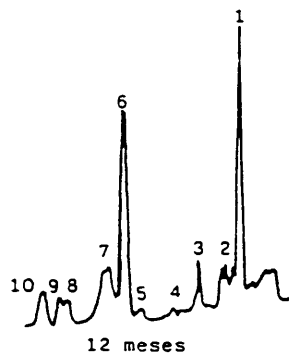
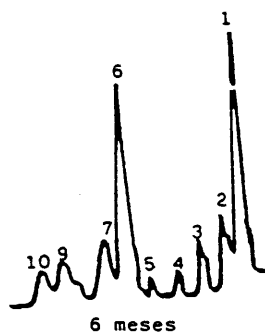
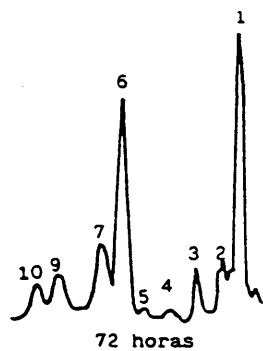


Fig. 39.- Curvas densitométricas de las proteínas miofibrilares de las muestras congeladas a las 4h post-mortem (RRC), durante la conservación al estado congelado (72h, 6 y 12 meses), siendo: (1) Miosina, (2) M y C-proteínas, (3)  $\alpha$ -actinina, (4) 95.000 dalton, (5) 55.000 dalton, (6) Actina, (7) Troponina-T, (8) 30.000 dalton, (9) Miosina cadena ligera 1 y Troponina-I, (10) Troponina-C y Miosina cadena ligera 2.

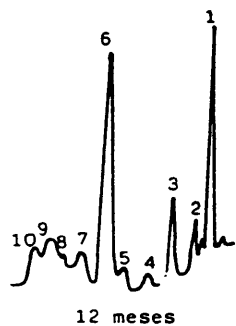
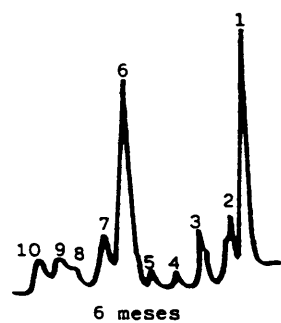
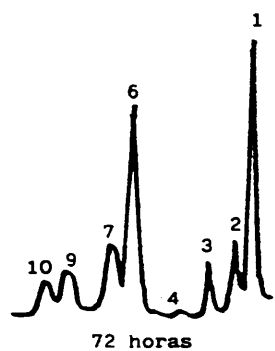


Fig. 40.- Curvas densitométricas de las proteínas miofibrilares de las muestras congeladas a los 4h post-mortem estimuladas con una corriente de 56 voltios y cambio de polaridad cada 10 segundos (EEC), durante la conservación al estado congelado (72h, 6 y 12 meses), siendo: (1) Miosina, (2) M y C-proteínas, (3)  $\alpha$ -actinina, (4) 95.000 dalton, (5) 55.000 dalton, (6) Actina, (7) Troponina-T, (8) 30.000 dalton, (9) Miosina cadena ligera 1 y Troponina-I, (10) Troponina-C y Miosina cadena ligera 2.



Tabla XLV.- Variación de la concentración relativa<sup>(1)</sup> de la miosina, determinada por electroforesis en SDS, durante la congelación y conservación al estado congelado.

Muestras	F <sup>(2)</sup>	Período de conservación (meses)											
		0	1	2	3	4	5	6	9	12			
MNC	1.11 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.09 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.06 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	1.09 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.07 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.02 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	1.04 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.00 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	0.97 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	0.94 <sup>d</sup> <sub>1</sub>			
RRC	1.06 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.03 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	1.05 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.02 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	1.00 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	1.00 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.02 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	0.99 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.93 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	0.90 <sup>c</sup> <sub>1</sub>			
EEC	1.08 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.07 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.01 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.03 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	1.04 <sup>a,b</sup> <sub>1,2</sub>	1.03 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.00 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.99 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	0.95 <sup>c,d</sup> <sub>1,2</sub>	0.92 <sup>d</sup> <sub>1</sub>			

(1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes a la miosina y a la actina.

(2) Análisis realizados antes de la congelación.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(4) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla XLVI.- Variación de la concentración relativa (1) de los compuestos de 95000 y 55000 dalton, determinada por electroforesis en SDS, durante la congelación y conservación al estado congelado.

Muestras	F(2)	Período de conservación (meses)										
		0	1	2	3	4	5	6	9	12		
MNC	0.30 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.27 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.31 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.31 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.34 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.34 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.40 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	0.41 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	0.44 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	0.49 <sup>e</sup> <sub>1</sub>		
RRC	0.26 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.28 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.29 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.32 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.30 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	0.34 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	0.37 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	0.38 <sup>c</sup> <sub>1,2</sub>	0.43 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	0.47 <sup>e</sup> <sub>1</sub>		
EEC	0.31 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.29 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	0.31 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.27 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	0.31 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	0.35 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	0.39 <sup>d,e</sup> <sub>1</sub>	0.37 <sup>c,d</sup> <sub>2</sub>	0.43 <sup>e</sup> <sub>1</sub>	0.49 <sup>f</sup> <sub>1</sub>		

181

(1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes a los compuestos de 95000 y 55000 dalton y la actina.

(2) Análisis realizado antes de la congelación.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(4) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Tabla XLVII.- Variación de la concentración relativa (1) de la troponina-T, determinada por electroforesis en SDS, durante la congelación y conservación al estado congelado.

Muestras	F(2)	Período de conservación (meses)											
		0	1	2	3	4	5	6	9	12			
MNC	1.01 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.01 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.02 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.00 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	1.01 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.93 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.90 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	0.90 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	0.88 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	0.86 <sup>d</sup> <sub>1</sub>			
RRC	1.03 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.00 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	1.01 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.02 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.96 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.98 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	0.96 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	0.95 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	0.93 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	0.91 <sup>c</sup> <sub>2</sub>			
EEC	0.99 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.97 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.99 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.98 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	0.93 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	0.94 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.91 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	0.89 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	0.87 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	0.84 <sup>d</sup> <sub>1</sub>			

18  
22

(1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes a la troponina-T y a la actina.

(2) Análisis realizado antes de la congelación.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas (P < 0.05).

(4) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas (P < 0.05).

Tabla XLVIII.- Variación de la concentración relativa <sup>(1)</sup> del compuesto de 30000 dalton, determinada por electroforesis en SDS, durante la congelación y conservación al estado congelado.

Muestras	F <sup>(2)</sup>	Período de conservación (meses)									
		0	1	2	3	4	5	6	9	12	
MNC	-	-	-	0.06 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	0.08 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	0.04 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.11 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	0.09 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	0.13 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	0.14 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	
RRC	-	-	-	-	-	-	0.07 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	0.06 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	0.10 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	0.09 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	
EEC	-	-	-	-	0.09 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.09 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.12 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	0.08 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	0.14 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	0.16 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	

(1) La concentración relativa viene determinada por el cociente entre las áreas correspondientes al compuesto de 30000 dalton y a la actina.

(2) Análisis realizado antes de la congelación.

(3) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(4) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

co de los músculos o al empleo de la estimulación eléctrica antes de realizarse la congelación (Tabla XLV). Tampoco se han observado diferencias significativas debidas al proceso de congelación para ninguno de los tratamientos ensayados. Durante la conservación al estado congelado esta relación descende de manera significativa ( $P < 0.05$ ) en todas las muestras, lo que indica la degradación de la miosina. Comportamientos análogos han sido descritos por otros autores (Matsukura y col., 1981; Wagner y Añón, 1986). Por otra parte no se han observado diferencias significativas, a lo largo del período estudiado, entre los distintos tratamientos realizados.

La relación entre los compuestos de 95000 y 55000 dalton antes y después de realizarse la congelación no presenta diferencias significativas entre los distintos tratamientos realizados (Tabla XLVI). El aumento en el contenido de estos compuestos durante la conservación al estado congelado se explica por la degradación de la miosina, no habiéndose encontrado diferencias significativas entre los diversos tratamientos realizados.

La relación entre la troponina-T y la actina es independiente del estado bioquímico del músculo y del empleo de la estimulación eléctrica, no observándose diferencias significativas entre los distintos tratamientos ensayados, antes de realizarse la congelación (Tabla XLVII). Tampoco se han observado modificaciones en esta relación debidas al efecto de la congelación, si bien, en todos los casos, durante el período de conservación existe cierta degradación de la troponina-T (de manera similar a lo señalado por Kang y col., 1983), la cual es mayor a partir del cuarto mes de conservación en las muestras MNC y EEC.

A lo largo del período de conservación al estado congelado se observa la aparición de compuestos de 30000 dalton a partir del segundo, tercer y quinto mes en las muestras MNC, EEC y RRC respectivamente (Tabla XLVIII). Esta relación alcanza valores significativamente más elevados al final del período de conservación en las muestras EEC y MNC. Aunque se ha indicado que la degrada-

ción de la troponina-T da lugar a la formación de compuestos de 30000 dalton, tanto durante la conservación de la carne al estado refrigerado (Salm y col., 1983) como al estado congelado (Kang y col., 1983), no se ha podido establecer en este estudio una relación inversa entre ambos componentes (Tabla XLVII). Aunque si se ha puesto de manifiesto la degradación de la troponina-T y la formación de compuestos de 30000 dalton durante la conservación al estado congelado.

A la vista de los resultados se puede indicar que los fenómenos de degradación en las proteínas miofibrilares son menos acusados durante la conservación al estado congelado que al estado refrigerado, debido a la menor actividad del factor activado por el calcio (CAF), las catepsinas B y D y otras proteasas a bajas temperaturas. El estado bioquímico del músculo antes de la congelación o el empleo de la estimulación eléctrica no influyen sobre la degradación de la miosina y la formación de compuestos de 55000 y 95000 dalton. Las muestras congeladas en estado de post-rigor manifiestan una mayor degradación de la troponina-T que, aunque se ha indicado por diversos autores que da lugar a la aparición de compuestos de 30000 dalton, no se corresponde exactamente a lo encontrado en este trabajo, ya que aparecen desfasados en el tiempo. El contenido en compuestos de 30000 dalton es más elevado en las muestras congeladas en post-rigor, que la presentada en las muestras en pre-rigor al final del período estudiado.

#### IV.3.5.- Estudio de la capacidad de retención de agua (CRA).

El comportamiento de la capacidad de retención de agua durante la congelación y conservación al estado congelado se recoge en la tabla XLIX.

La capacidad de retención de agua de las muestras antes de realizarse el proceso de congelación depende del estado bioquímico en que se encuentren los músculos, observándose menores valo-

Tabla XLIX.- Evolución de la capacidad de retención de agua durante la congelación y conservación al estado congelado.

Muestras	F <sup>(1)</sup>	Período de conservación (meses)										
		0	1	2	3	4	5	6	9	12		
MNC	48.14 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	45.08 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	44.89 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	45.17 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	42.34 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	43.96 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	42.35 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	43.03 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	40.17 <sup>d,e</sup> <sub>1</sub>	38.93 <sup>e</sup> <sub>1</sub>		
RRC	52.17 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	42.93 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	40.21 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	40.27 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	39.76 <sup>b,d</sup> <sub>2</sub>	38.93 <sup>b,d</sup> <sub>2</sub>	35.16 <sup>e</sup> <sub>2</sub>	37.16 <sup>d,e</sup> <sub>2</sub>	36.83 <sup>e</sup> <sub>2</sub>	36.17 <sup>e</sup> <sub>1</sub>		
EEC	47.62 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	44.17 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	43.11 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	43.37 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	42.16 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	41.97 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	41.26 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	39.72 <sup>c,d</sup> <sub>1,2</sub>	37.72 <sup>d</sup> <sub>2</sub>	39.62 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>		

(1) Análisis realizados antes del proceso de congelación.

(2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

res en esta para las muestras MNC y EEC. Comportamientos análogos han sido descritos por Jolley y col.(1981) y Honikel y col.(1981a). La relación entre el agua libre y el agua total depende de los valores de pH, de manera que es menor cuanto menores son estos (MNC-5.77; EEC-5.74 y RRC-6.25), de manera análoga a lo observado durante el estudio de la conservación de la carne al estado refrigerado (Tabla XXVIII).

Por efecto de la congelación se observa una disminución en la CRA en todas las muestras, siendo esta del 6% y 7% del valor inicial en MNC y EEC respectivamente y del 17.7% en la RRC. Las elevadas pérdidas en la CRA en los músculos congelados en estado de pre-rigor se relacionan con las elevadas pérdidas de peso habidas durante el proceso de descongelación (Tabla XLI) y son atribuidas al rigor de la descongelación.

A lo largo de la conservación al estado congelado se observa una disminución en la CRA en todas las muestras que presentan diferencias significativas ( $P < 0.05$ ) en función del distinto estado bioquímico de los músculos antes de la congelación. La menor CRA durante los seis primeros meses en los músculos congelados en estado de pre-rigor, se relaciona con la aparición del rigor de la descongelación en estas muestras. A partir del noveno mes de conservación, de manera análoga a lo observado en las pérdidas de peso durante la descongelación (Tabla XLI), no se aprecian diferencias significativas entre los distintos tratamientos realizados.

Por otra parte, la capacidad de retención de agua mantiene una correlación alta ( $r=0.83$ ) y significativa al noventa y nueve por ciento, con la solubilidad proteica a lo largo del período estudiado en las muestras MNC y EEC, mientras que en los músculos congelados en estado de pre-rigor esta correlación es inferior ( $r=0.61$ ) y significativa sólo al noventa y cinco por ciento. Esto es debido a que la variación de dicho parámetro se explica en las muestras RRC, durante la primera etapa de la conservación en base a los efectos del rigor de la descongelación y de la pérdida de so



lubilidad proteica, mientras que a partir del noveno mes de conser vación, como consecuencia de la degradación del ATP, sólo parece deberse a la disminución de la proteína soluble.

Así pues, se podría indicar que la capacidad de reten ción de agua durante la congelación y conservación al estado conge lado está condicionada por los diferentes estados bioquímicos del músculo en el momento de la congelación, ya que en las muestras congeladas en pre-rigor puede aparecer el fenómeno del rigor de la descongelación.

#### IV.3.6.- Estudio del color por métodos objetivos.

La determinación del color durante la congelación y con servación al estado congelado queda reflejada en la tabla L.

El índice de luminosidad (L) antes de la congelación es más elevado en las muestras estimuladas debido al rápido descenso de pH que provoca la aplicación de la estimulación eléctrica, dando lugar a un brusco descenso de la CRA, tal como se ha indicado durante la conservación al estado refrigerado (Tabla XXVIII). La liberación de agua en la superficie de la carne, que provoca este fenómeno, la da un aspecto más brillante (Pearson y Dutson, 1985). Sin embargo, no se observan diferencias significativas en el pará metro L para las muestras MNC y RRC, a pesar del distinto estado bioquímico en que se encuentran (pre y post-rigor).

Por efecto de la congelación no se han determinado dife rencias significativas para ninguno de los tratamientos realizados, manteniendo las muestras EEC índices significativamente más eleva dos (Tabla L).

A lo largo de la conservación al estado congelado se ha determinado un descenso del pará metro L en todas las muestras (Ta-  
bla L). Al igual que antes y después de la congelación las mues tras estimuladas manifiestan valores significativamente más eleva dos.

Tabla L.- Determinación objetiva del color de la carne por medio de un colorímetro Hunter-Lab durante la congelación y conservación al estado congelado.

Tratamientos	F(1)	Período de conservación (meses)									
		0	1	2	3	4	5	6	9	12	
MNC	L	36.93 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	37.43 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	36.07 <sup>a,c</sup> <sub>1</sub>	35.13 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	37.23 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	38.12 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	35.23 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	34.69 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	35.19 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	34.72 <sup>c</sup> <sub>1</sub>
	a	9.07 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	9.58 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	9.63 <sup>a,c</sup> <sub>1</sub>	9.01 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	8.79 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	9.13 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	10.02 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	9.68 <sup>a,c</sup> <sub>1</sub>	11.12 <sup>d</sup> <sub>1</sub>	10.97 <sup>d</sup> <sub>1</sub>
	b	7.03 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.12 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.23 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	6.97 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.06 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.11 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	8.10 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	7.97 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	9.27 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	9.13 <sup>c</sup> <sub>1</sub>
	a/b	1.29 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.34 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.33 <sup>a</sup> <sub>1,2</sub>	1.29 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.24 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.28 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.23 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.21 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.19 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.20 <sup>b</sup> <sub>1</sub>
RRC	L	37.64 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	36.14 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	37.93 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	38.14 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	36.13 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	35.47 <sup>a,c</sup> <sub>2</sub>	36.92 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	34.63 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	35.71 <sup>a,c</sup> <sub>1</sub>	35.09 <sup>c</sup> <sub>1</sub>
	a	9.54 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	9.09 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	9.11 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	8.79 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	9.55 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	9.07 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	9.72 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	10.01 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	10.67 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	10.13 <sup>b</sup> <sub>1</sub>
	b	7.12 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	6.88 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	7.17 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	6.46 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	7.64 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	7.03 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	7.96 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	8.34 <sup>c</sup> <sub>1</sub>	8.19 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	8.58 <sup>c</sup> <sub>1</sub>
	a/b	1.34 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.32 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.27 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	1.36 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	1.25 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	1.29 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	1.22 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	1.20 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	1.21 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	1.18 <sup>c</sup> <sub>1</sub>
EEC	L	39.18 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	40.13 <sup>a</sup> <sub>3</sub>	40.69 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	39.72 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	41.01 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	40.12 <sup>a</sup> <sub>3</sub>	39.61 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	37.12 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	37.93 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	37.03 <sup>b</sup> <sub>2</sub>
	a	11.62 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	12.13 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	11.98 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	11.54 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	12.01 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	11.71 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	12.86 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	12.04 <sup>a,b</sup> <sub>2</sub>	13.12 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	13.69 <sup>c</sup> <sub>2</sub>
	b	7.90 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	8.03 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	8.61 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	7.80 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	8.00 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	7.96 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	9.43 <sup>c,d</sup> <sub>2</sub>	8.25 <sup>b</sup> <sub>1</sub>	9.51 <sup>c,d</sup> <sub>1</sub>	10.14 <sup>d</sup> <sub>2</sub>
	a/b	1.47 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	1.51 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	1.39 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	1.48 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	1.50 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	1.47 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	1.31 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	1.46 <sup>a</sup> <sub>2</sub>	1.38 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	1.35 <sup>b</sup> <sub>2</sub>

(1) Análisis realizado antes de realizarse el proceso de congelación.

(2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

(3) Números distintos para cada uno de los parámetros L, a, b de una misma columna, indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

dos para este índice durante el período estudiado, sin que se hayan encontrado diferencias significativas entre los músculos congelados en estado de pre o post-rigor no estimulados. Al comparar estas modificaciones en la luminosidad con las encontradas durante la conservación al estado refrigerado, se observa que en la carne congelada, estas pérdidas son considerablemente inferiores (Tablas XXXVI y LI) sobre todo en las muestras estimuladas. Esto es debido, entre otras razones, a que la determinación del color se realizó inmediatamente después de descongelar la carne, mientras que las pérdidas de luminosidad en la carne refrigerada se observan, principalmente, durante el período de conservación (Tabla XXXV).

El comportamiento del parámetro a (tonalidad roja) no está condicionado por el estado bioquímico del músculo, al no existir diferencias significativas entre las muestras MNC y RRC, pero sí por el empleo de la estimulación eléctrica. Tang y Henrickson (1980) indicaron que el mayor valor del parámetro a en las muestras estimuladas era debido a su mayor contenido en oximioglobina, producida por el rápido descenso de pH cuando la temperatura de la carne es todavía elevada. Este comportamiento es similar al determinado durante el estudio de la refrigeración y conservación al estado refrigerado (Tabla XXXV).

No se han observado diferencias significativas por efecto de la congelación, permaneciendo las muestras estimuladas con valores significativamente más elevados para este parámetro.

Durante la conservación al estado congelado se observa un aumento en la tonalidad roja de la carne para todas las muestras (Tabla LI), siendo estas considerablemente más bajas en los músculos congelados en estado de pre-rigor, aunque no se han encontrado diferencias significativas entre las muestras MNC y RRC durante la conservación (Tabla L). Las muestras estimuladas han manifestado valores significativamente más elevados para este índice durante el período estudiado, que coincidiría con el comportamiento durante las primeras 48 horas de conservación al estado refrige

Tabla LI.- Variación porcentual de los parámetros L, a y b al final del período de conservación estudiado<sup>(1)</sup>.

Parámetros	Muestras		
	MNC	RRC	EEC
L	-5.9	-6.7	-5.5
a	20	6.1	17.8
b	29.8	20.5	28.3
a/b	-6.9	-11.9	-8.1

(1) Los valores porcentuales se obtienen de la siguiente manera:

$$\frac{\text{valor a los 12 meses} - \text{valor antes congelación}}{\text{valor antes congelación}} \times 100.$$

(2) Valores negativos indican pérdidas, y positivos incrementos.

rado (Tabla XXXV).

Los valores del parámetro b (tonalidad amarilla) no manifiestan diferencias significativas entre los distintos tratamientos realizados antes de la congelación (Tabla L), coincidiendo con el comportamiento encontrado durante la refrigeración (Tabla XXXV). No se ha observado ningún efecto sobre este índice debido a la congelación en ninguno de los tratamientos. A lo largo de la conservación al estado congelado se ha determinado un aumento en este parámetro en todas las muestras (Tabla LI), aunque éste es menor para las muestras congeladas en estado de pre-rigor.

Contreras y Harrison (1981) establecieron una relación entre los parámetros de la tonalidad roja y amarilla (a/b), señalando que su disminución indica una oxidación de la oximioglobina y mioglobina a metamioglobina. A lo largo de la conservación al estado congelado esta relación va disminuyendo en todas las muestras (Tabla LI) aunque es más acusada para los músculos congelados en estado de pre-rigor.

A través de los resultados obtenidos se observa que durante la congelación y conservación al estado congelado los músculos estimulados eléctricamente muestran un color más rojo y más brillante que el resto de las muestras, sin que se haya observado una disminución en estos parámetros al realizarse los controles inmediatamente después de la descongelación. También se puede observar que la formación de metamioglobina aumentó durante la conservación al estado congelado en todas las muestras, especialmente en los músculos congelados en estado de pre-rigor.

#### IV.3.7.- Análisis instrumental de textura.

La determinación de la resistencia al corte de la carne, medida en la célula de Kramer, durante la congelación y conservación al estado congelado queda reflejada en la tabla LII.

Tabla LII.- Determinación de la resistencia al corte de la carne medida en la célula de Kramer durante la congelación y conservación al estado congelado.

Muestras	F (1)	Período de conservación (meses)										
		0	1	2	3	4	5	6	9	12		
MNC	16.12 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub> 13.18 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	13.74 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub> 12.53 <sup>a</sup> <sub>1</sub>	13.71 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub> 13.60 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	15.01 <sup>b</sup> <sub>1</sub> 15.09 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>	17.53 <sup>c</sup> <sub>1</sub> 16.93 <sup>b,c</sup> <sub>1</sub>							
RRC	15.64 <sup>a</sup> <sub>1</sub> 22.47 <sup>b</sup> <sub>2</sub>	20.42 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub> 21.01 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	19.13 <sup>c</sup> <sub>2</sub> 19.52 <sup>b,c</sup> <sub>2</sub>	19.07 <sup>c</sup> <sub>2</sub> 18.62 <sup>c</sup> <sub>2</sub>	16.97 <sup>c</sup> <sub>1</sub> 17.64 <sup>c</sup> <sub>1</sub>							
EEC	17.92 <sup>a,c</sup> <sub>1</sub> 14.61 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	15.12 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub> 15.67 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	13.17 <sup>b</sup> <sub>1</sub> 14.73 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	14.08 <sup>b</sup> <sub>1</sub> 14.42 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>	17.95 <sup>c</sup> <sub>1</sub> 16.13 <sup>a,b</sup> <sub>1</sub>							

193

- (1) Análisis realizados inmediatamente antes de realizarse la congelación.
- (2) Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).
- (3) Números distintos en la misma columna indican diferencias significativas ( $P < 0.05$ ).

Los análisis iniciales, antes de la congelación, no indicaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos realizados (Tabla LII). Aunque las muestras congeladas en estado de post-rigor, tanto las sometidas a refrigeración previa durante 48 horas como las estimuladas eléctricamente, manifiestan valores más elevados para este parámetro.

Por efecto de la congelación no se observan diferencias significativas en las muestras MNC y EEC. Sin embargo, los músculos congelados en estado de pre-rigor manifiestan resistencias al corte que son significativamente más elevadas ( $P < 0.05$ ). Estos mayores índices en las muestras RRC se explican por la aparición del rigor de la descongelación, que provoca contracciones muy intensas en la fibra muscular (Chizzolini, 1978; Rosset y Roussel-Ciquard, 1980; Rosset y col., 1984). La aparición de este fenómeno ha sido puesta de manifiesto al estudiar las pérdidas de peso durante la descongelación (Tabla XLI) y la capacidad de retención de agua (Tabla IL).

Los índices de resistencia al corte al inicio de la conservación al estado congelado, determinados con respecto a las muestras MNC (Tabla LIII) indican que las muestras congeladas en estado de pre-rigor manifiestan valores que son 1.7 veces superiores al resto de las muestras. Estos mismos índices establecidos al final del período de conservación (Tabla LIII), indican que apenas hay diferencias entre las distintas muestras estudiadas.

Durante la conservación al estado congelado se observa un aumento en la resistencia al corte en las muestras MNC y EEC (Tabla LIII), mientras que las muestras en estado de pre-rigor manifiestan una disminución en este índice.

Este comportamiento de las muestras RRC se explica porque a lo largo de la conservación al estado congelado se produce la degradación del ATP (Rosset y Roussel-Ciquard, 1980; Locker, 1985; Wagner y Añon, 1986). De manera que a partir del sexto mes de con-

Tabla LIIII.- Relación entre la resistencia al corte inicial (R.I.)<sup>(1)</sup>, resistencia al corte final (R.F.)<sup>(2)</sup> y el incremento porcentual de la resistencia al corte ( $\Delta$  dureza)<sup>(3)</sup> durante la conservación al estado congelado.

Tratamientos	R.I.	R.F.	$\Delta$ dureza
MNC	100	100	28.45
RRC	170.4	104.2	-21.49
EEC	110.8	95.2	10.40

(1) La resistencia al corte (K) al inicio de la conservación al estado congelado se determina de la manera siguiente:

$$R.I. = \frac{K \text{ al inicio de la conservación de RRC o EEC} - K \text{ al inicio conservación de MNC}}{K \text{ al inicio de la conservación de MNC}} \times$$

(2) La resistencia al corte (K) al final de la conservación al estado congelado se determina de la manera siguiente:

$$R.F. = \frac{K \text{ al final de la conservación de RRC o EEC} - K \text{ al final de la conservación de MNC}}{K \text{ al final de la conservación de MNC}}$$

(3) El incremento porcentual de la resistencia al corte se determina de la manera siguiente:

$$\Delta \text{ dureza} = \frac{K \text{ al final del período de conservación} - K \text{ al inicio del período de conservación}}{K \text{ al inicio del período de conservación}}$$

x 100 .

(4) Valores positivos indican incrementos en la dureza, y negativos pérdidas.



servación, al no observarse diferencias significativas en la dureza de la carne entre las distintas muestras (Tabla LII), se supone que estas reservas deben estar por debajo de  $0.3 \mu\text{M}$  de ATP por gramo de muestra, y como consecuencia no tiene lugar el rigor de la descongelación. Este mismo fenómeno ha sido determinado al estudiar las pérdidas de peso durante la descongelación (Tabla XLI) y la capacidad de retención de agua (Tabla IL).

Así pues, se puede indicar que la resistencia al corte durante el período de conservación al estado congelado está condicionada por el diferente estado bioquímico de las muestras en el momento de la congelación. En los músculos congelados en estado de pre-rigor aparece el fenómeno del rigor de la descongelación. Este fenómeno persiste durante los primeros meses de conservación, no manifestándose a partir del sexto mes por la degradación del ATP durante la conservación al estado congelado.

#### IV.3.8.- Análisis sensorial.

La determinación de la dureza y la aceptabilidad general mediante el jurado de degustación queda reflejada en la tabla LIV.

La dureza de la carne, determinada por el equipo de catadores, es similar para todas las muestras antes de realizarse la congelación. Sin embargo, por efecto de la congelación, se observa una mayor dureza en las muestras RRC, que es considerablemente más elevada que la observada en los músculos congelados en estado de post-rigor.

A lo largo del período de conservación apenas se observa una variación en la dureza de las muestras MNC y EEC, mientras que en las muestras RRC manifiesta un leve descenso. Durante los seis primeros meses de conservación los músculos congelados en estado de pre-rigor muestran mayor dureza que la determinada en las muestras MNC y EEC. Esta mayor dureza de las muestras RRC se explica por la aparición del rigor de la descongelación, puesto de mani-

Tabla LIV.- Determinación de la dureza y la aceptabilidad general de la carne por medio de un jurado de degustación durante la congelación y la conservación al estado congelado.

Análisis Muestras		F <sup>(1)</sup>	Período de conservación (meses)								
			0	1	2	3	4	5	6	9	12
Dureza <sup>(2)</sup>	MNC	4.3	4.0	3.8	3.6	4.0	4.2	4.6	4.1	4.8	4.7
	RRC	4.6	6.1	5.8	6.0	5.6	5.4	5.5	5.4	5.1	5.2
	EEC	4.6	4.2	4.0	4.0	3.8	4.0	4.2	4.0	4.6	4.9
Aceptabilidad general <sup>(3)</sup>	MNC	4.0	6.1	5.6	6.1	6.0	5.8	5.4	4.8	4.7	4.1
	RRC	3.8	3.0	3.4	3.8	4.0	3.8	4.2	4.4	4.6	4.3
	EEC	3.5	5.7	5.3	5.3	6.0	5.4	5.0	5.0	5.1	4.3

(1) Análisis realizados antes de la congelación.

(2) La escala empleada para determinar la dureza va de 1 = muy blando, a 7 = muy duro.

(3) La escala empleada para determinar la aceptabilidad general va de 1 = muy mala, a 7 = muy buena.

fiesto anteriormente por la pérdida de peso durante la descongelación (Tabla XLI), la capacidad de retención de agua (Tabla IL) y el análisis instrumental de dureza (Tabla LII).

Existe una correlación  $r=0.69$ , significativa al noventa y nueve por ciento, entre la resistencia al corte, medida en la célula de Kramer, y la dureza determinada por el jurado de degustación. Comportamientos similares se han descrito al analizar esta relación en los apartados IV.1.5 y IV.2.10, fenómeno que coincide con lo descrito por Pearson (1963) y Lee(1983).

Antes de realizarse la congelación, la aceptabilidad general manifestada por el equipo de catadores, es similar en todas las muestras. Esta aceptabilidad disminuye tras el proceso de congelación en las muestras RRC debido, entre otras razones, a la aparición del rigor de la descongelación, que da lugar a una carne más dura (Tabla LII) y menos jugosa (Tabla IL). Durante la conservación al estado congelado se observa una pérdida de aceptabilidad general en las muestras MNC y EEC, que coincidiría con las pérdidas de sus capacidades de retención de agua (Tabla IL), mientras que para los músculos congelados en estado de pre-rigor esta va aumentando, explicándose este fenómeno por la menor incidencia del rigor de la descongelación cuanto más avanzado está el período de conservación. Durante los cinco primeros meses de conservación, la aceptabilidad general de las muestras RRC es considerablemente inferior a la presentada por los músculos congelados en estado de post-rigor, igualándose a partir del sexto mes de conservación.

El comportamiento de la aceptabilidad general está inversamente relacionado con la variación de la dureza, que parece ser el factor que condiciona la valoración de este parámetro por el jurado de degustación.

## V.- CONCLUSIONES

Se han realizado estudios sobre la efectividad de la estimulación eléctrica en canales de cordero merino entrefino, destinadas a su conservación a corto y largo plazo. El control del proceso se ha llevado a cabo mediante técnicas convencionales específicas, llegándose a las siguientes conclusiones:

1.- El efecto de la estimulación eléctrica sobre la textura de la carne de cordero es mayor cuanto más elevado sea el voltaje aplicado, debido a la mayor excitación del sistema nervioso, hecho que provoca contracciones musculares fuertes y la degradación rápida del ATP.

2.- Para un mismo voltaje, tiene más efectividad el empleo de corrientes eléctricas con cambio de polaridad, porque evitan fenómenos de polarización de membrana, con el consiguiente descenso en la resistencia al paso de la corriente.

3.- De los tres tipos de estimuladores ensayados, el diseñado en el Instituto del Frío ha resultado ser el más eficaz, debido a que sus características eléctricas permiten utilizar corrientes con cambio de polaridad y voltajes más elevados.

4.- Existe una correlación aceptable y significativa ( $r=0.64$ ;  $P < 0.001$ ) entre la dureza de la carne determinada sensorialmente por un jurado de degustación y la resistencia al corte medida en la célula de Kramer. Sin embargo, no se han podido establecer correlaciones tan altas ( $r=0.20$ ;  $P < 0.1$ ) entre dicho jurado de degustación y la resistencia al corte medida en la Warner-Bratzler.

5.- Se ha establecido una relación entre el descenso de pH producido durante la estimulación eléctrica de canales de cordero refrigeradas rápidamente y la resistencia al corte medida en la célula de Kramer, de manera que se puede predecir el grado de dureza de la carne observando el pH conseguido con la aplicación del estímulo eléctrico.

6.- Para canales de cordero, se ha visto que las características de estimulación idóneas, en función de la textura de la carne determinada tanto por métodos instrumentales como sensoriales, ha sido la de 56 voltios de tensión eficaz con cambio de polaridad cada 10 segundos.

7.- El empleo de la estimulación eléctrica, en las condiciones mencionadas, evita la aparición del acortamiento muscular por frío en canales refrigeradas rápidamente, dando lugar a una carne con un nivel de dureza similar a la obtenida mediante la refrigeración lenta.

8.- El acortamiento muscular por frío, producido en canales de cordero sometidas a velocidades de refrigeración rápida, alcanza cierto grado de reversibilidad durante la conservación al estado refrigerado.

9.- Se consigue un mejor color de la carne procedente de canales estimuladas eléctricamente, sólo durante las primeras 48 horas después del sacrificio.

10.- La aplicación de la estimulación eléctrica, en canales de cordero que han sido congeladas a partir de las 4 horas post-mortem, evita la aparición del rigor de la descongelación.

11.- El desarrollo de los microorganismos, tanto durante la refrigeración y conservación al estado refrigerado como durante la congelación y conservación al estado congelado, no está condicionada por la aplicación de la estimulación eléctrica, sino por otros factores, como pueden ser los diferentes tratamientos frigoríficos ensayados.

12.- La aplicación de la estimulación eléctrica en canales de cordero no influye sobre la degradación de la miosina ni sobre la formación de compuestos de 55000 y 95000 dalton, tanto durante la conservación al estado refrigerado como al estado congelado.

Como conclusión general de este trabajo, se puede indicar que, en canales de cordero, la estimulación eléctrica de 56 voltios de tensión eficaz y cambio de polaridad cada 10 segundos, evita la aparición del acortamiento muscular por frío cuando se utilizan velocidades de refrigeración rápidas o el rigor de la descongelación cuando se congelan las canales a partir de las cuatro horas después del sacrificio.

## VI.- BIBLIOGRAFIA



- ABBAN, A., Stouffer, J., y Westervelt, R., (1975), J. Food Sci., 40, 1214.
- ABERLE, E. y Judge, M., (1979), J. Food Sci., 44, 859.
- ANDERSON, R., (1980), Proc. 26th. Eur. Meet Meat Res. Workers, vol. 2, 102 Colorado Springs.
- ARAKAWA, N., Inagaki, C., Kitamura, T., Fujiki, S., y Fujimaki, M., (1976), Agric. Biol. Chem., 40, 1445.
- ASGHAR, A. y Pearson, A.M., (1980), Adv. Food Res., 26, 54.
- ASGHAR, A. y Henrickson, R.L., (1982), CRC Crit. Rev. Food Sci. and Nutrit., 18, 1-58.
- AYRES, J.C., (1960), J. Appl. Bacteriol., 23, 471.
- BABIKER, S.A., (1985), Meat Sci., 14, 83.
- BABIKER, S.A. y Lawrie, R.A., (1983), Meat Sci., 8, 1.
- BAILEY, M.E., Hedrick, H.B., Parrish, F.C. y Naumann, H.D., (1962), Food Technol., 16, 99.
- BAILEY, M.E. y Parrish, F.C., (1983), J. Food Sci., 48, 204.
- BEHNKE, J., Fennema, O., y Cassens, R., (1973), J. Food Sci., 38, 539.
- BELOUSOV, A.A., Plotnikov, V.I., Roshtchupkin, V.I. y Avilou, V.V., (1981), Proc. 27th Eur. Meet. Meat Res. Workers, A:45, Viena.
- BELTRAN, J.A., Jaime, I., López-Lorenzo, P. y Roncales, P., (1986), Proc. 32th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 157, Gante (Bélgica).

BENDALL, J.R., (1966), "Muscle and contractile machine", en: "The physiology and biochemistry of muscle as a food". Ed. Briskey E., Cassens R. y Trautman I., Madison University of Wisconsin Press, p.7-18.

BENDALL, J.R. (1973a), Proc. 19th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. I 1-27, París.

BENDALL, J.R. (1973b), en: "Structure and function of muscle" (Bourne, G.H. (Ed.)). Academic Press, New York and London, 243.

BENDALL, J.R. (1974), Technologia Mesa, 15, 7.

BENDALL, J.R. (1975), J. Sci. Food Agric., 26, 55.

BENDALL, J.R. (1976), J. Sci. Food Agric., 27, 819.

BENDALL, J.R. (1978), Proc. 24th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. I E1:3-8, Kulbambch (Alemania).

BENDALL, J.R. (1979), Meat Sci., 3, 143.

BENDALL, J.R. (1980), "The electrical stimulation of carcasses of meat animal", en: Developments in Meat Science, vol. 1, Ed. Lawrie R., Applied Science Publishers, London, p.37-60.

BENDALL, J.R., Ketteridge, C.C. y George, A.R. (1976), J. Sci. Food Agric. 17, 1123.

BEUGE, D.R. y Marsh, B.B. (1975), Biochem. Biophys. Res. Commun., 65, 478.

BOULTON, P.E. (1980), J. Food Sci., 45, 148.

BOULTON, P.E., Fisher, A., Harris, P. y Baxter, R. (1973), J. Food Technol., 8, 39.

- BOUTON, P.E., Harris, P.V., Shorthose, W.R. y Smith, M.E. (1974),  
J. Food Technol., 9, 31.
- BOUTON, P.E., Ford, A., Harris, P.V. y Shaw, F. (1978), J. Food Sci., 43, 1392.
- BOUTON, P.E., Ford, A., Harris, P.V. y Shaw, F. (1980), Meat Sci., 4, 145.
- BOWLING, R., Smith, G., Dutson, T. y Carpenter, Z.L. (1978), J. Food Sci.,  
43, 502.
- BRAATHEN, O.S. (1973), Scand. Refrign., 2, 8.
- BRATZLER, L.J. (1932), "Measuring the tenderness of meat by means of  
a mechanical shear", M.S. Thesis, Kansas State Univ.  
Manhattan.
- BRATZLER, L.J. (1949), "Determining the tenderness of meat by the use  
of the Warner-Bratzler method", Proc. 2nd Recip. Meat Conf.  
117.
- BURRILL, L.M., Deethardt, D. y Saffle, R.L. (1962), Food Technol., 16, 145.
- BUTS, B., Claeys, E. y Demeyer, D. (1986), Proc. 32th Eur. Meet. Meat Res.  
Workers, vol. 1 3:10, Gante (Bélgica).
- CALKINS, C.R., Dutson, T.R., Smith, G.C. y Carpenter, Z.L. (1982), J.  
Food Sci., 47, 1350.
- CARROLL, A. y Longley, I. (1956), J. Biol. Chem., 220, 583.
- CARSE, W.A. (1973), J. Food Technol., 8, 163.
- CASSENS, R.G. (1977), Food Technol., 31, 76.
- CASSENS, R.G. y Newbold, R.P. (1967), J. Food Sci., 32, 13.

CENTRO NACIONAL DE ALIMENTACION Y NUTRICION (1982), Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos y bebidas. Ministerio de Sanidad y Consumo.

CHEAH, A. y Cheah, K., (1978), Proc. 24th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. I, D9:1-6, Kulbamch (Alemania).

CHEN, S.C., Brown, P.R. y Rosie, D.M. (1977), J. Chrom. Sci., 15, 218.

CHENG, C.S. y Parrish, F.C. (1978), J. Food Sci., 43, 461.

CHIZZOLINI, R. (1978), Euroviande, 19, 39.

CHRISTOPHERSEN, I. (1968), Rec. Adv. Food Sci., 4, 251.

CHRYSTALL, B.B. (1980), Ann. Technol. Agric., 29, 679.

CHRYSTALL, B.B. y Hagyard, C.J. (1975), N. Z. J. Agric. Res., 7, 130.

CHRYSTALL, B.B. y Hagyard, C.J. (1976), N. Z. J. Agric. Res., 19, 7.

CHRYSTALL, B.B. y Devine, C.E. (1978), Meat Sci., 2, 49.

CHRYSTALL, B.B. y Devine, C.E. (1980), Proc. 26th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 2, 104, Colorado Springs.

CHRYSTALL, B.B. Devine, C.E. y Davey, C.L. (1980), Meat Sci., 4, 69.

CHRYSTALL, B.B. y Devine, C.E. (1982), Meat Sci., 9, 33.

CONTRERAS, S. y Harrison, D.L. (1981), J. Food Sci., 46, 404.

CORNFORTH, D., Pearson, A. y Merkel, R. (1980), Meat Sci., 4, 103.

CRIVELLY, G., Aubert, S. y Aguzzi, U. (1972), Supplément au Bulletin I.I.F./I.I.R. Annexe 1972-2, pp. 171-177.

- CROSS, H.R., (1979), J. Food Sci., 44, 509.
- CROSS, H.R., Berry, B.W. y Muse, D. (1979), J. Food Sci., 44, 1432.
- CROSS, H.R., West, R.L. y Dutson, T.R. (1981), Meat Sci., 5, 261.
- CURRIE, R.W., Sporns, P. y Wolfe, F.H. (1982), J. Food Sci., 47, 1226.
- DAINTY, R.H., Shaw, B.G., De Boer, K.A. y Scheps, R.G. (1975), J. Appl. Bacteriol., 39, 73.
- DALRYMPLE, R.H. y Hamm, R. (1974), J. Food Sci., 39, 1218.
- DAVEY, C.L. y Gilbert, K.V. (1974), J. Sci. Food Agric., 25, 931.
- DAVEY, C.L. y Gilbert, K.V. (1975), J. Sci. Food Agric., 26, 755.
- DAVEY, C.L. y Gilbert, K.V. (1976), J. Sci. Food Agric., 27, 244.
- DAVEY, C.L., Gilbert, K.V. y Carse, W.A. (1976), N. Z. J. Agric. Res., 19, 13.
- DAVEY, C.L. y Foster, M. (1977), Meat Sci., 1, 157.
- DAVIDEK, J. y Velisek, J. (1973), Fleischwirtschaft, 53, 1285.
- DEATHERAGE, F.E. y Garnatz, G. (1952), Food Technol., 6, 260.
- DEMEYER, D. y Vandenriessche, F. (1980), Proc. 26th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 2, 6, Colorado Springs.
- DEVINE, C.E., Chrystall, B.B. y Davey, C.L. (1979), J. Sci. Food Agric., 30, 1007.
- DUMONT, B. (1982), Hygiène et Technologie de la viande fraîche, CNRS, XXII, 221.

- DUTSON, T.R. (1981), Meat quality improvements and industry benefits of EE. EE Seminar. Coventry, U.K., Meat and Livestock Commission.
- DUTSON, T.R. (1983), J. Food Biochem., 7, 223.
- DUTSON, T.R., Smith, G.C., Hostetler, R.L. y Carpenter, Z.L. (1975), J. Anim. Sci., 41, 289.
- DUTSON, T.R., Smith, G.C. y Carpenter, Z.L. (1980), J. Food Sci., 45, 1097.
- DUTSON, T.R., Smith, G.C. y Carpenter, Z.L. (1981), Fleischwirtschaft, 61, 596.
- EIKELENBOOM, G., Smulders, F.J.M. y Ruderus, H. (1981), Proc. 27th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 148, Viena.
- EIKELENBOOM, G., Smulders, F.J. y Ruderus, H. (1985), Meat Sci., 15, 247.
- EIKELENBOOM, G. y Smulders, F.J.M. (1986), Meat Sci., 16, 103.
- ENAMORADO, R., Díaz, R., Gutierrez, F. y Rodríguez, R. (1981), Proc. 27th Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 161, Viena.
- ETLINGER, J.D. y Fischman, D.A. (1973), Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 32, 511.
- FABIANSOON, S., Jonsson, G. y Ruderus, H. (1979), Proc. 25th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 88-91, Budapest.
- FABIANSOON, S. y Laser Reutersward, A. (1985), Meat Sci., 12, 205.
- FIELDS, P.A., Carpenter, Z.L. y Smith, G.C. (1976), J. Anim. Sci., 42, 72.
- FISCHER, C., Hamm, R. y Honikel, K.O. (1979), Meat Sci., 3, 11.

- FOLLET, M.J. y Ratcliff, P.W. (1969), Proc. 15th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 282, Helsinki.
- FRAZER, A.E. (1977), Symposium CENECA, París.
- GARCIA-MATAMOROS, E., Moreno, J., Fuster, C. y Moral, A. (1967), Revista del Frío, 12, 79.
- GARCIA-MATAMOROS, E., Moral, A. y Borderías, J. (1977), Proc. 23th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, C-7, Moscú.
- GARCIA-MATAMOROS, E., Moral, A., Jiménez-Colmenero, F., Nieto, J.C. y Carballo, J. (1985), Proc. 31th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 77, Albena (Bulgaria).
- GEORGE, A., Bendall, J.R. y Jones, R. (1980), Meat Sci., 4, 51.
- GILBERT, K.V. (1978), Proc. 20th Annu. Meat Ind. Res. Conf., Nueva Zelanda.
- GILBERT, K.V. y Davey, C.L. (1976), N.Z.J. Agric. Res., 19, 429.
- GOLL, D.E., Henderson, D.W. y Kline, E.A. (1964), J. Food Sci., 29, 590.
- GRIFFIN, C., Stiffler, D., Ray, E. y Berry, B. (1981), J. Food Sci., 46, 987.
- GRUSBY, A.H., West, R.L., Carpenter, J.W. y Palmer, A.Z. (1976), J. Anim. Sci., 42, 253.
- HALL, L.C., Savell, J.W. y Smith, G.C. (1980), J. Food Sci., 45, 171.
- HAMM, R. (1979), Fleischwirtschaft, 59, 393.
- HAMM, R. (1981), "Post-mortem changes in muscle affecting the quality of comminuted meat products", en: Developments in Meat Science, vol. 2, Ed. Lawrie, R., Applied Science Publishers, London, p. 93-124.

- HAMM, R. y Van Hoof, J. (1971), Zeitschr. Lebensmitt. Untersuch. Forsch., 147, 193.
- HAMM, R. y Grabowska, J. (1980), Fleischwirtschaft, 60, 114.
- HARSHAM, A.A. y Deatherage, F.E. (1951), "Tenderization of Meat", Patente U.S., n° 2544581.
- HERRING, H.K., Cassens, R.G., Suess, G.G., Brungardt, V.H. y Briskey, E.J. (1967), J. Food Sci., 38, 987.
- HODGKIN, A.L. (1965), "The conduction of the nervous impulse", Liverpool University, Liverpool, England.
- HONIKEL, K.O. (1976), Fleischwirtschaft, 56, 1143.
- HONIKEL, K.O. y Fischer, C. (1977), J. Food Sci., 42, 1633.
- HONIKEL, K.O., Fischer, C., Hamid, A. y Hamm, R. (1981a), J. Food Sci., 46, 1.
- HONIKEL, K.O., Hamid, A., Fischer, C. y Hamm, R. (1981b), J. Food Sci., 46, 23.
- HONIKEL, K.O., Roncales, P. y Hamm, R. (1983), Meat Sci., 8, 221.
- HOSTETLER, R.L., Landmann, W.A., Link, B.A. y Fitzhugh, H.A. (1970), J. Anim. Sci., 31, 47.
- HOSTETLER, R.L., Link, B.A., Landmann, W.A. y Fitzhugh, H.A. (1972), J. Food Sci., 37, 132.
- HOSTETLER, R.L., Link, B.A., Landmann, W.A. y Fitzhugh, H.A. (1973), J. Food Sci., 39, 264.



- HOULIER, B. (1981), "Contribution à l'étude de la stimulation électrique des carcasses", Thesis, Univ. Clermont-Ferrand (France).
- INSTITUTO INTERNACIONAL DEL FRIO (1972), Recomendaciones para la preparación y distribución de alimentos congelados.
- IRONSIDE, J. I. M. y Love, R. M. (1958), J. Sci. Food Agric., 9, 597.
- JACKSON, H. W. (1981), J. Am. Oil Chem. Soc., 58, 227.
- JEREMIAH, L. E. (1980), J. Food Sci., 45, 187.
- JEREMIAH, L. E. y Martin, A. H. (1980), Proc. 26th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 2, 30, Colorado Springs.
- JIMENEZ-COLMENERO, F., Moral, A., Carballo, J., Enamorado, R. y García-Matamoros, E. (1985), Proc. 31th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 73, Albena (Bulgaria).
- JOLLEY, P. D., Honikel, K. O. y Hamm, R. (1980/81), Meat Sci., 5, 99.
- JONSSON, G., Fabiansson, F. y Nilsson, H. (1978), Proc. 26th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, E:10, Kulmbach (Alemania).
- JOWITT, R. (1974), J. Texture Studies, 5, 351-358.
- JUDGE, M. D. y Aberle, E. D. (1980), J. Food Sci., 45, 1736.
- JUDGE, M. D., Reeves, E. S. y Aberle, E. D. (1980), Proc. 26th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 2, 74, Colorado Springs.
- KANG, J. O., Ito, T. y Fukazawa, T. (1983), Meat Sci., 9, 131.
- KATZ, B. (1967), "Nerve, muscle and synapse", McGraw-Hill, New York.

- KHAN,A.(1971),J.Food Sci.,36,120.
- KHAN,A. y Frei,F.(1971),Can.Inst.Food Technol.,4,139.
- KLOSE,A., Sayre,R. y Pool,M.(1971),Poultry Sci.,50,585.
- KOOHMARAIE,M., Kennick,W.H., Anglemier,A.F., Elgasim,E.A. y Jones, T.K.(1984a),J.Food Sci.,49,290.
- KOOHMARAIE,M., Kennick,W.H., Elgasim,E.A. y Anglemier,A.F.(1984b), J.Food Sci.,49,292.
- KRAMER,A., Burkhardt,G.J. y Rogers,H.P.(1951),Canner,112,34.
- KUSHMERICK,I.(1969),Biochim.Biophys.Acta,153,279.
- LABUZA,T.P.(1971),CRC Crit.Rev.Food Technol.,2,355.
- LAROCHE,M.(1980),Viandes et Produits Carnés,1,6.
- LAWRIE,R.A.(1974),en:"Meat Science",Ed.Pergamon Press Ltd.,Oxford, Inglaterra, pp.150-178.
- LAWRIE,R.A.(1981),Electrical stimulation for improving meat quality. IUF o ST Symp.:Advances in Hot Meat Processing, Rydzyna, Poland.
- LEDWARD,D.A.(1985),Meat Sci.,15,149.
- LEDWARD,D.A., Dickinson,R.F., Powell,V.H. y Shorthose,W.R.(1986), Meat Sci.,16,245.
- LEE,Y.B.(1983),J.Food Sci.,48,304.
- LEMON,D.W.(1975),Environment Canada. Fisheries and Marine Service Halifax Laboratory, New Series Circular 51.

- LOCKER, R.H. (1960), Food Res. 25, 304.
- LOCKER, R.H. (1985), "Cold-induced toughness of meat", en: Advances in Meat Research, vol. 1, Ed. Pearson, A.M. y Dutson, T.R., AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut, p. 140.
- LOCKER, R.H. y Hagyard, C.J. (1963), J. Sci. Food Agric., 14, 787.
- LOCKER, R.H., Davey, C.L., Nottingham, P., Haughney, D. y Law, N. (1975), Adv. Food Res., 21, 157.
- LOCKER, R.H. y Daines, G.J. (1976), J. Sci. Food Agric., 14, 787.
- LOCKER, R.H. y Wild, J.C. (1984), Meat Sci., 10, 235.
- LOPEZ, C.A. y Herbert, E.W. (1975), "The private Franklin, The man and his family", 1ª ed., p. 44, W.W. Norton and Company, New York.
- MACBRIDE, M.A. y Parrish, F.C. (1977), J. Food Sci., 42, 1627.
- MALESZEWSKI, J. (1973), Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny, 24, 23.
- MARCUS, A. (1964), Basic Electricity 2nd ed., Prentice-Hall, Englewood Cliffs, N.J., 264.
- MARSH, B. y Leet, N. (1966), J. Food Sci., 31, 450.
- MARSH, B. y Carse, W.A. (1974), J. Food Technol., 9, 129.
- MATSUKURA, U., Okitani, A., Nishimura, T. y Kato, H. (1981), Biochim. Biophys. Acta, 662, 41.
- McCOLLUM, P.D. y Henrickson, R.L. (1977), J. Food Qual., 1.
- McKEITH, F.K., Smith, G.D., Dutson, T.R., Savell, J.W., Hostetler, R.L. y Carpenter, Z.L. (1980), J. Food Prot., 43, 795.

- McKEITH, F.K., Smith, G.D., Savell, J.W., Dutson, T.R., Carpenter, Z.L.  
y Hammons, D.R. (1981), J. Food Sci., 46, 13.
- McRAE, S.E., Secombe, C.G., Marsh, B.B. y Carse, W.A. (1971), J. Food  
Sci., 36, 566.
- McVEIGH, J.M. y Tarrant, P.V. (1982), J. Anim. Sci., 54, 790.
- MILLER, A.J., Ackerman, S.A. y Palumbo, S.A. (1980), J. Food Sci., 45,  
1446.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION (1985): Anuario de  
Estadística Agraria 1983.
- MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION (1986): Manual de  
Estadística Agraria 1985.
- MOELLER, P.W., Fields, P.A., Dutson, T.R., Landmann, W.A. y Carpenter,  
Z.L. (1976), J. Food Sci., 42, 510.
- MOERMAN, P.C. (1972), Netherlands results on effect of rate of chilling  
and storage conditions on bacterial multiplication on meat.  
Proc. Meat Res. Inst. Symp. No. 2, pp. 7.51-7.53.
- MONIN, G. (1980), Ann. Technol. Agric., 29, 563.
- MORAL, A., García-Matamoros, E. y Jiménez, S. (1981), Proc. 27th Eur. Meet.  
Meat Res. Workers, vol. 1, 80, Viena.
- MORAL, A., Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J. y García-Matamoros, E.  
(1984), Proc. 30th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 71,  
Bristol.
- MORTON, H.C. y Newbold, R.P. (1982), Meat Sci., 7, 285.
- MOTHERSILL, C. y McLoughlin, J.V. (1977), Bioch. Soc. Trans., 5, 1741.

- MRIGADAT, B., Smith, G.C., Dutson, T.R., Hall, L.C., Hanna, M.O. y Vanderzant, C. (1980), J. Food Prot., 43, 686.
- NEWBOLD, R.P. (1966), "Changes associated with rigor mortis", en: "The physiology and biochemistry of muscle as a food", p. 213-244. Ed. Briskey, E.J., Cassens, R.G. y Trautman, A., Univ. of Wisconsin Press, Madison.
- NEWBOLD, R.P. y Scopes, R.K. (1967), Biochem. J., 105, 127.
- NEWBOLD, R.P. y Harris, R.V. (1972), J. Food Sci., 37, 337.
- NEWBOLD, R.P. (1979), Proc. Recipr. Meat Conf., 32, 70.
- NICHOLS, J.E. y Cross, H.R. (1980), J. Food Prot., 43, 514.
- NUSS, J.I. y Wolfe, F. (1980-81), Meat Sci., 5, 201.
- OFFER, G., Restall, D. y Trinick, J., (1984), "Water-holding in meat", en: Recent advances in the Chemistry of Meat, Ed. Bailey, A.J., ARC Meat Research Institute, Langford, Bristol, p. 71-86.
- OKITANI, A., Matsukura, U., Kato, H. y Fujimaki, M. (1980), J. Biochem., 87, 1133.
- OKUBANIO, A. y Stouffer, J., (1975), J. Food Sci., 40, 955.
- OLIVEIRA, J.S. y Parmelee, C.E. (1976), J. Milk Food Technol., 39, 269.
- OLSON, D.G. Parrish, F.C., Dayton, W.R. y Goll, D.E. (1977), J. Food Sci., 42, 117.
- ORCUTT, M.W., Dutson, T.R., Cornforth, D.P. y Smith, G.C. (1984), J. Anim. Sci., 58, 1366.

- PARTMANN,W.(1975),"The effects of freezing and thawing on food quality"; en:Water Relations of Foods,Academic Press, London, pp.507-537.
- PEARSON,A.M.(1963),"Objective and subjective measurements for meat tenderness". Proc.Meat Tenderness Symposium, p.135. Campbell Soup Co.,Camden N.J.
- PEARSON,A.M. y Dutson,T.R.(1985),"Scientific basis for electrical stimulation",en:Advances in Meat Research, vol.1. Ed. Pearson,A.M. y Dutson,T.R. AVI Publishing Company,Inc. Westport,Connecticut,p.185-215.
- PENNY,I.F.(1980),"The enzymology of conditioning",en:Developments in Meat Science, vol.1. Ed.Lawrie,R., Applied Science Publishers, London, p.115-134.
- PENNY,I.F., Voyle,C.A. y Dransfield,E.(1974),J.Sci.Food Agric.,25, 703.
- PENNY,I.F. y Dransfield,E.(1979),Meat Sci.,3,135 .
- PENNY,I.F. y Ferguson-Price,R.(1979),Meat Sci.,3,121.
- PETAJA,E., Kukkonen,E. y Puolanne,E.(1985),Meat Sci.,12,145.
- PORZIO,M.A. y Pearson,A.M.(1977),Biochem.Biophys.Acta,490,27.
- POWELL,V.H.(1978),Proc.24th Eur.Meet.Meat Res.Workers,D-1:1, Kulbanch (Alemania).
- POWELL,V.H., Dickinson,R.F., McPhail,N.G., Bouton,P.E. y Harris,P.V. (1984),J.Food Sci.,49,363.
- QUARRIER,E., Carpenter,Z.L. y Smith,G.C.(1972),J.Food Sci.,37,130.

- RACCACH, M. y Henrickson, R.L. (1978), J. Food Prot., 41, 957.
- RACCACH, M. y Henrickson, R.L. (1979), J. Food Proc. Preser., 3, 43.
- RASHID, N.H., Henrickson, R.L., Asghar, A. y Claypool, P.L. (1983), J. Food Sci., 48, 10.
- RENTSCHLER, H.C. (1951), "Apparatus and Method for the Tenderization of Meat", U.S. Patent 2.544.724.
- RHODES, D.H. y Dranfield, E. (1973), J. Sci. Food Agric., 24, 1583.
- RILEY, R., Savell, J. y Smith, G. (1980), J. Food Sci., 45, 1101.
- ROBBINS, F., Walker, J., Cohen, S. y Chatterjee, S. (1979), J. Food Sci., 44, 1672.
- ROSSET, R., Meziane, J. y Roussel-Ciquard, N. (1974), Influence de la congelation sur les aliments proteiques. Serie de Syntheses Bibliographiques n°4. Paris. APRAIA, p. 74.
- ROSSET, R. y Roussel-Ciquard, N. (1980), RTVA, 155, 19.
- ▼ ROZIER, J., Saniart, M., Grebot, D. y Carlier, V. (1980), RTVA, 19, 29.
- ▼ ROSSET, M.R. y Liger, R. (1981), La couleur de la viande. Serie de Syntheses Bibliographiques n°22. Paris. APRAIA, p. 61.
- RUDERUS, H. y Bergquist, A. (1980), Ann. Technol. Agric., 29, 659.
- RUDERUS, H. y Fabiansson, S. (1980), Ann. Technol. Agric., 29, 581.
- SALE, P. (1980), Ann. Technol. Agric., 29, 615.
- SALM, C.P., Mills, E.W., Reeves, E.S., Judge, M.D. y Aberle, E.D. (1981), J. Food Sci., 46, 1284.

- SALM, C.P., Forrest, J.C., Aberle, E.D., Mills, E.W., Snyder, A.C. y Judge, M.D. (1983), *Meat Sci.*, 8, 163.
- SANCHEZ, C. y Encinas, I., (1984), *Organización del Mercado de Carnes en la Comunidad Económica Europea*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.
- SAVELL, J.W., Dutson, T., Smith, G. y Carpenter, Z.L. (1978), *J. Food Sci.*, 43, 1606.
- SAVELL, J.W., Smith, G.C., Carpenter, Z.L. y Parrish, F.C. (1979), *J. Food Sci.*, 44, 911.
- SAVELL, J.W., McKeith, F.K. y Smith, G.C. (1981), *J. Food Sci.*, 46, 1777.
- SCHMIDT-HEBBEL, H. (1966), "Química y tecnología de los Alimentos", Ed. Salesiana, Santiago de Chile.
- SCHMIDT-LORENZ, W. y Gutschmidt, J. (1969), *Fleischwirtschaft*, 49, 1033.
- SCHROEDER, J., Cramer, D. y Bowling, R. (1982), *J. Anim. Sci.*, 54, 549.
- SCHUT, J. (1976), "Meat Emulsions", en: *Food Emulsions*, Ed. Friberg, S. Marcel Dekker Inc., New York, p. 385-458.
- SCHWARTZ, W.N. y Bird, J.W.C. (1977), *Biochem. J.*, 167, 811.
- SEBRANEK, J.G., Sang, P.N., Ruct, R.E., Topel, D.G. y Kraft, A.A. (1978), *J. Food Sci.*, 43, 842.
- SEIFTER, S., Dayton, S., Novic, B. y Muntwyler, E. (1950), *Arch. Biochem.*, 25, 191.
- SHANNON, W.G., Marion, W.W. y Stadelman, W.J. (1957), *Food Technol.*, 11, 284.



- SHARRAH, N., Kunze, M.S. y Pangborn, R.M. (1965), Food Technol., 19, 238.
- SHAW, F.D. y Walker, D.J. (1977), J. Food Sci., 42, 1140.
- SHORTHORSE, W.R. (1978), Meat Sci., 2, 189.
- SINHUBER, R.O. y Yu, T.C. (1977), Yukagaku, 26, 259.
- SMITH, G.C. (1985), "Effects of electrical stimulation on meat quality, color, grade, heat ring and palatability", en: Advances in Meat Research, vol. 1. Ed. Pearson, A.M. y Dutson, T.R., AVI Publishing Company, Inc. Westport Connecticut, p. 121-153.
- SMITH, G.C., Arango, T.C. y Carpenter, Z.L. (1971), J. Food Sci., 36, 445.
- SMITH, G.C., Dutson, T.R., Carpenter, Z.L. y Hostetler, R.L. (1977), Proc. Meat Ind. Res. Conf. Am. Meat Inst. Found., Chicago, 29, 147.
- SMITH, G.C., Dutson, T.R. y Carpenter, Z.L. (1979), J. Food Sci., 44, 335.
- SMITH, G.C., Savell, J.W., Dutson, T.R., Hostetler, R.L., Terrell, R.N. Murphey, C.E. y Carpenter, Z.L. (1980), Proc. 26th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 2, 19, Colorado Springs.
- SMULDERS, F., Eikelenboom, G. y Van Logtestijn, J. (1981), Proc. 27th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 151-153, Viena.
- SMULDERS, F.J.M., Eikelenboom, G. y Van Logtestijn, J.G. (1983), Proc. 29th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 104, Salsomaggiore (Italia).
- SMULDERS, F.J.M., Korteknie, F., Woolthuis, C.H. y Eikelenboom, G. (1984), Proc. 30th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 75, Bristol.

- SONAIYA, E.B. y Stouffer, J.R. (1982), J. Food Sci., 47, 1010.
- SONAIYA, E.B., Stouffer, J.R. y Beerman, D.H. (1982), J. Food Sci., 47, 889.
- SORINMADE, S.O. (1978), Ph.D. Thesis, University of Maryland, Maryland.
- SORINMADE, S.O., Cross, H.R. y Ono, K. (1978), Proc. 24th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 2 E:9, Kulmbach (Alemania).
- SORINMADE, S.O., Cross, H.R., Ono, K. y Wergin, W.P. (1982), Meat Sci., 6, 71.
- SPECHT, H. y Kunis, J. (1986), "Effects of combined premortal and post mortal electrical treatment on the quality of meat", en: Meat Chilling, Bristol, pp. 45-52. International Institute of Refrigeration.
- STIFFLER, D.M. y Ray, E.E. (1978), Proc. West. Sec. Am. Soc. Anim. Sci., 20 64.
- STRICKLAND, P.E., Lester, T.J. y West, R.L. (1979), J. Anim. Sci., 49, 18.
- SWATLAND, H.J. (1976), J. Anim. Sci., 43, 577.
- SWATLAND, H.J. (1977), Can. Inst. Food Sci. Technol. J., 10, 280.
- SWATLAND, H.J. (1980), J. Anim. Sci., 30, 67.
- SZCZESNIAK, A.A., Brandt, M.A. y Friedman, H.H. (1963), J. Food Sci., 28, 397.
- TANG, B.H. y Henrickson, R.L. (1980), J. Food Sci., 45, 1139.
- TAY, H.C., Aberle, E.D. y Judge, M.D. (1983), J. Food Sci., 48, 1328.

- TAYLOR, A.A., Chrystall, B.B. y Rhodes, D.N. (1972), J. Food Technol., 7, 251.
- TAYLOR, D.G. y Marshall, A.R. (1980), J. Food Sci., 45, 144.
- THOMPSON, J.T. (1981), "The effect of electrical current on hot boned pork quality". M.S. Thesis, Oklahoma State University, Stillwater.
- TOURAILLE, C. y Sale, P. (1977), Les Cahiers de l'ENS. BANA, n°1, 18.
- U.N.E., 33.119 (1976).
- U.S. Feed Grains Council. Entrevista Antonio Reus. Cárnica 2000, 25-26, 99 (1986).
- VALIN, C. (1980), Ann. Technol. Agric., 29, 539.
- VALINE, C. (1981), Rechercher, 12, 612.
- VAN HOOFF, J. y Hamm, R., (1973), Zeitschr. Lebensmitt. Untersuch. Forsch. 153, 271.
- VERBEKE, R., Buts, B., Demeyer, D., Van de Voorde y Claeys, E. (1986), Proc. 32th Eur. Meet. Meat Res. Workers, vol. 1, 127, Gante (Bélgica).
- VOISEY, P. (1976), J. Text. Stud., 7, 11.
- WAGNER, J.R. y Añon, M.C. (1985), J. Food Technol., 20, 735.
- WAGNER, J.R. y Añon, M.C. (1986), J. Food Technol., (pendiente de publicación).
- WEBER, K. y Osborn, M. (1969), J. Biol. Chem., 244, 4406.

- WEST, R.L. (1982), Proc. Int. Symp. Meat Sci. Technol., Lincoln, N.B., 1982, Ntal. Live Stock and Meat Board, Chicago 1-23.
- WESTERVELT, R.G. y Stouffer, J.R. (1978), J. Anim. Sci., 46, 5.
- WHITTING, R.C. (1980), J. Food Sci., 45, 288.
- WHITTING, R.C., Strange, E.D., Miller, A.J., Benedict, R.C., Mozersky, S.M. y Swift, C.E. (1981), J. Food Sci., 46, 484.
- WILL, P.A., Henrickson, R.L., Morrison, R.D. y Odell, G.V. (1979), J. Food Sci., 44, 1646.
- WILL, P.A., Ownby, C.L. y Henrickson, R.L. (1980), J. Food Sci., 45, 21.
- WILLIAMS, J.C., Field, R.A., Miller, G.I. y Welke, R.A. (1983), J. Food Sci., 48, 1776.
- WU, J.J., Dutson, T.R. y Carpenter, Z.L. (1981), J. Food Sci., 46, 1132.
- YAMAMOTO, K., Kunihiro, S. y Yasui, T. (1979), J. Food Sci., 44, 51.
- YATES, L.D., Dutson, T.R., Caldwell, J. y Carpenter, Z.L. (1983), Meat Sci., 9, 157.

